UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
MAR 28 '50

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A.v.MURALT · L.RUZICKA · J.WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: H.MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. VI. – Fasc. 2 15. II. 1950 Fr. 2.50

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

BERNARD D. DAVIS: Studies on Nutritionally Deficient Bacterial Mutants Isolated by Means of Penicillin 41

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

O. MONECKE: Zum Problem der Kernstruktur: Das $N_{10}P_6$-Modell 51
G. ANTONOFF: Dependence of Capillary Rise on the Length of Capillary 52
R. JEANLOZ: Structure de la chitine et de l'acide hyaluronique et oxydation des sucres aminés par l'ion periodate . 52
S. WEIDMANN: Die Natur des induktiven Elements in biologischen Membranen 53
H. STAIGER: Chromosomenzahlen stenoglosser Prosobranchier 54
J. BRACHET: Quelques observations sur le mode d'actions de l'organisateur chez les Amphibiens 56
Y. ZOTTERMAN: The Water Taste of the Frog 57
W. LOTMAR and L. E. R. PICKEN: A New Crystallographic Modification of Chitin and its Distribution 58
K. LANG, G. SIEBERT, I. BALDUS und A. CORBET: Über das Vorkommen von Desoxyribonuclease und Kathepsin in Zellkernen aus Nieren 59
R. JEENER et D. SZAFARZ: Vitesse de renouvellement et localisation de l'acide ribonucléique 60
K. FELIX und G. LEONHARDI: Eine neue Reaktion zum Nachweis und zur Bestimmung der *p*-Oxyphenylbrenztraubensäure im Harn 61
S. NEUKOMM et A. REYMOND: Excrétion des 17-cétostéroïdes chez l'homme normal 62
EDW. FLÜCKIGER und H. FLÜCK: Der Einfluß von Vitamin E auf *Daphnia longispina* O.F.M. 64
F. HERČÍK: Some Observations about the Morphology of Bacteriophage 64
R. W. G. WYCKOFF: Filaments in Cultures of Bacteriophage 66
H. BORNSCHEIN und F. KREJCI: Der Einfluß künstlicher Durchströmung auf den postmortalen Schwund der Cochlearpotentiale 67
W. REPPE: Zur Frage der Bildung von Nickeltetracarbonyl aus Nickelsalzen mit CO (Disputanda) 68
F. HALBERG: A Precision-Measuring Adapter for Small-Volume Syringes (Pro Laboratorio) 69

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

On the Theory of Stochastic Processes and their Application to the Theory of Cosmic Radiation. By Niels Arley (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1948) Ref. M. Fierz) 70
Terrestrial Radio Waves. By H. Bremmer (Elsevier Publishing Co., Inc., Amsterdam, 1949) (Ref. G. Klages) . . . 70
Supersonic Flow and Shock-Waves. By R. Courant and K. O. Friedrichs (Interscience Publishers, New York, 1948) (Ref. J. Ackeret) 70
Kristalle und Gesteine. Von P. Eskola (Springer-Verlag, Wien 1946) (Ref. E. Baier) 71
Die Immunitätsforschung, Bd. I, 1. Teil. Von R. Doerr (Springer-Verlag, Wien 1947) (Ref. J. Tomcsik) 71

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

De Principiis: W. PAULI: Die philosophische Bedeutung der Idee der Komplementarität 72
Studiorum progressus: P. KRÜGER: Die Grundlagen des Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskelfasern der Wirbeltiere 75
Congrès – Varia – Corrigendum 80

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.50. Abonnement pour un an fr. 24.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 28.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.
Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.
Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant
Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à par. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.
Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.
L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.50. L'abbonamento annuo è di fr. 24.— per la Svizzera; all'estero fr. 28.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.
Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.
La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.
Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.
Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 200.—, $^1/_2$ pag. fr. 120.—, $^1/_4$ pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.
EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Luxemburg, Dänemark, Schweden, Norwegen, Finnland, Tschechoslowakei, Portugal und Marokko nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.
Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 24.—, im Ausland sFr. 28.—; die Einzelnummer kostet Fr. 2.50.
Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.
Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.
Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 200.—, $^1/_2$ Seite Fr. 120.—, $^1/_4$ Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.
Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.50, by annual subscription by inland-mail fr. 24.—; other countries fr. 28.—. Prices in Swiss currency.
All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.
The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.
Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia VI/2

Ciba AG., Basel
Rascher-Verlag, Zürich
Sandoz AG., Basel
Kirchner AG., Bern
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich
Birkhäuser AG., Basel
Cilag AG., Schaffhausen
Verlag Hans Huber Bern
E. Mettler, Zürich
Wild AG., Heerbrugg

Universal Kathodenstrahloszillograph

Der Oszillograph eignet sich besonders für Stossprüfanlagen und Untersuchungen von Abschaltvorgängen usw.

Seine Hauptdaten sind folgende:
Eingebaute Hochspannungsanlage für 15, 25, 35 und 45 kV.
Empfindlichkeit in V/mm:
für die Zeitachse:
0,55 × Anodenspannung in kV;
für die Meßspannung:
0,44 × Anodenspannung in kV.
Strichschärfe: 0,03—0,3 mm.
log. Zeitablenkung 1 μs—1000 μs
lin. Zeitablenkung 1000 μs—1 s
einmalig und wiederholt
Einschwingzeit: 0,2 μs
Registrierformat: 6 × 6 cm
Registriervermögen: 10—15 Perioden pro mm.

Trüb, Täuber & Co. AG.

Fabrik elektrischer Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate, Zürich

STEPHAN THYSSEN-BORNEMISZA

VOM WESEN DES LEBENS UND DER SEELE

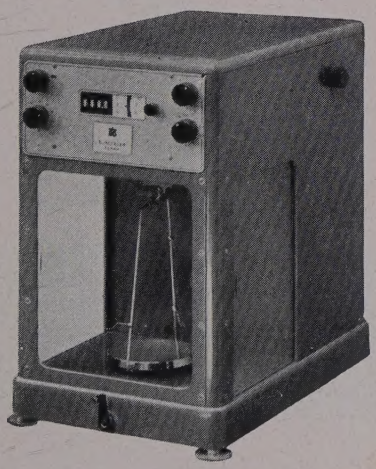
Der Verfasser wirft die tiefsten philosophischen Fragen auf, die ein Naturforscher stellen kann, und beantwortet sie, soweit dieses nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft möglich ist. Die von ihm vertretene Abbildungshypothese ermöglicht es, die Lebenserscheinungen auf kausaler Grundlage zu klären.

In Ganzleinenband Fr. 6.60

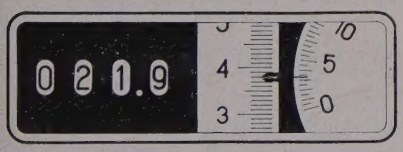
RASCHER VERLAG ZÜRICH

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

METTLER Analysenwaagen



Sie lesen direkt ab:

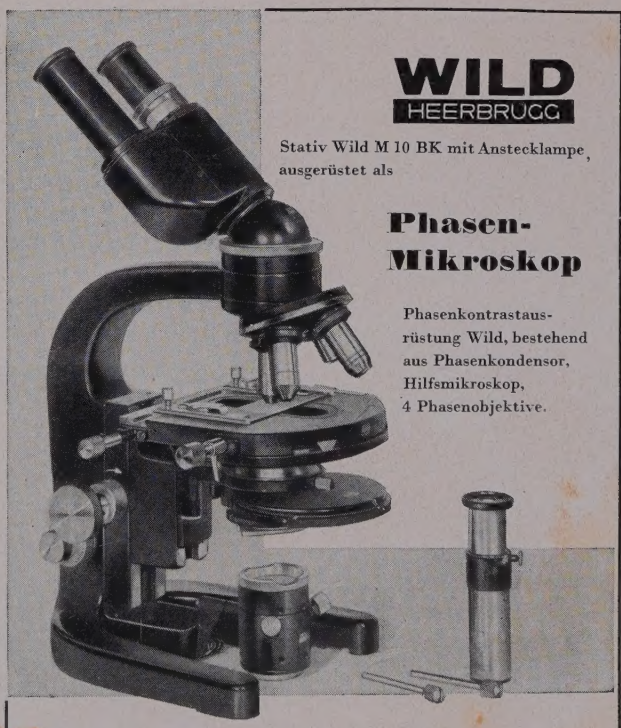


genau
schnell
einfach
sicher

Gewicht: 21,93833

Verlangen Sie unverbindlich Offerte oder Demonstration

E. METTLER Fabrik für Analysenwaagen
ZÜRICH 1
Pelikanstr. 19, Tel. (051) 25 25 70



WILD
HEERBRUGG

Stativ Wild M 10 BK mit Anstecklampe, ausgerüstet als

Phasen-Mikroskop

Phasenkontrastausrüstung Wild, bestehend aus Phasenkondensor, Hilfsmikroskop, 4 Phasenobjektive.

Ausführliche Beschreibung im Prospekt Me 509 d und Katalog Me 501 d

Auskünfte und Vorführung durch unsere Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
BAHNHOFSTR. 40
TELEFON 23 97 73
Zürich

Neu!

PAS-CILAG

GRANULAT

Sehr gute Verträglichkeit

Leicht dosierbar

Darmlöslich und vollständig resorbierbar

Angenehmste Applikationsart

Besonders für die Kinderpraxis geeignet

Wochenpackung zu 125 g
Kurpackung zu 450 g

Die Packungen enthalten ein Mass, das eine genaue Dosierung erlaubt.

CILAG AKTIENGESELLSCHAFT SCHAFFHAUSEN

CILAG

MATHEMATIKER-BIOGRAPHIEN

Diese Beihefte der «Elemente der Mathematik» geben neben den wichtigsten Daten eine kurze Charakteristik und Würdigung der großen Mathematiker und an Beispielen eine Darstellung ihres Werkes. Jedes Heft hat einen Umfang von 24 Seiten (Format 17 × 24 cm) und kostet Fr. 3.50.

Soeben erschienen:

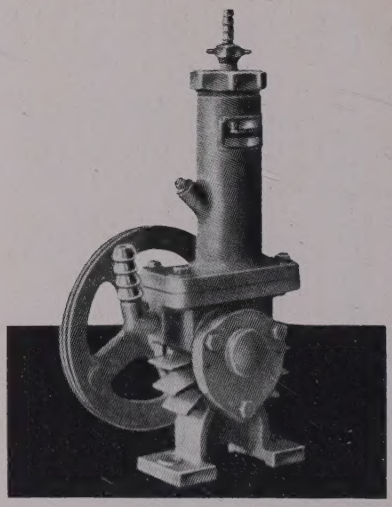
N. H. ABEL

von Dr. *Oystein Ore*, Professor an der Yale University, New Haven. (In französischer Sprache.) Mit einem Portät und einem Faksimile.

Bisher erschienene Beihefte: Jakob Steiner, par *L. Kollros;* Leonhard Euler, von *R. Fueter;* Ludwig Schläfli, von *J. J. Burckhardt;* Jost Bürgi und die Logarithmen von *E. Voellmy;* Johann und Jakob Bernoulli, von *J. O. Fleckenstein*; Evariste Galois, par *L. Kollros*.

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL



Neuer

Labor-Kompressor und Vakuumpumpe

Überdruck: 2 atü Endvakuum: besser als 1 Torr

Verlangen Sie Offerte

KARL KIRCHNER AG., BERN

Freiestraße 12, Telephon (031) 2 45 97

EXPERIENTIA

Vol. VI - Fasc. 2 Pag. 41–80 15. II. 1950

Studies on Nutritionally Deficient Bacterial Mutants Isolated by Means of Penicillin[1]

By Bernard D. Davis[2], New York, N.Y.

Studies on the mode of action of chemotherapeutic agents have not shown any direct effect on the known catabolic processes of bacteria. There is good reason, by exclusion, to suppose that they act by means of interfering with anabolic reactions, about which much less is known. In the last decade, Beadle and his school have made striking contributions to this area in biochemistry, as well as to genetics, by the use of nutritionally deficient ("biochemical") mutants of the mold, Neurospora—mutants which have lost one or another specific enzymic activity[3]. More recently, bacteria have been found to yield mutants of the same sort[4]. These microbial mutants offer a promising approach to the major theoretical problems of chemotherapy: the mechanism of chemotherapeutic action and the biochemical alterations responsible for drug-resistance in microorganisms. Furthermore, the phenomenon of drug-resistance presents a direct problem in microbial genetics. Finally, just as the nutritional requirements of various wild-type microorganisms have been of tremendous value in isolating the known vitamins, so the extension of this approach to the induction of artificial nutritional requirements offers promise as a method for detecting metabolites peculiar to microorganisms—metabolites of special promise as models for the construction of inhibitory analogues. For these several reasons this laboratory, interested in chemotherapy, has felt warranted in undertaking an excursion into microbial genetics.

It is a simple matter to isolate, from huge microbial populations, rare mutants that can survive or proliferate in a medium which suppresses the parent strain. Examples include mutations to drug-resistance, to bacteriophage-resistance, or to decreased nutritional requirements. Comparable techniques have not been available for the nutritionally deficient mutants, though these are in some respects more interesting. In the early investigations, deficient mutants were isolated by testing of spores or colonies selected at random—a tedious process, since the total frequency of recognizable mutants, even after optimal irradiation, rarely exceeds 1 or 2 per cent. Improved techniques of isolation have recently been introduced for Neurospora[1] and other molds[2], and for bacteria[3]. In the case of the bacteria, the techniques depended upon delayed or limited enrichment of the medium, with consequent production of small colonies of mutants which could be distinguished from the larger colonies of the parent strain. Since the colonies must not be too crowded, these techniques were limited to a few hundred colonies per Petri dish.

The penicillin method

For the isolation of rare mutants, a method permitting selection from much larger populations would be desirable. The possibility of such a method suggested itself on the basis of the report that penicillin has the remarkable property of sterilizing ("killing") bacteria only under conditions which permit growth[4]. We have confirmed and extended this conclusion. In a minimal medium containing glucose, lactate, ammonia, and sulfate as sole sources of carbon, nitrogen, and sulfur, various amino acid-requiring mutants of *E. coli* are completely resistant to the bactericidal action of penicillin. The addition of the required amino acid, however, renders the mutant as sensitive to penicillin as its parent wild-type strain. In applying this method to the isolation of new mutants, a suspension of *E. coli* was irradiated with ultraviolet light, further cultivated in an enriched medium, washed, and then incubated, in inocula of suitable size, with penicillin in minimal medium for 24 hours. Up to 100 p. c. of the large number of survivors, recovered by plating in agar media supplemented with casein hydrolysate or yeast extract, were found to be nutritionally deficient mutants. The penicillin method has been independently developed in

[1] Based on material delivered in a symposium on *The Relation of Genetics to Biochemistry* at the annual meeting of the American Chemical Society in San Francisco, Cal., March 30, 1949.

[2] U. S. Public Health Service, Tuberculosis Research Laboratory, Cornell University Medical College, New York 21, N. Y. – This paper is in the hands of the editor since June 16th, 1949.

[3] G. W. Beadle, Physiol. Rev. *25*, 643 (1945); Chem. Rev. *37*, 15 (1945).

[4] E. L. Tatum, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *11*, 278 (1946).

[1] J. Lein, H. K. Mitchell, and M. B. Houlahan, Proc. Nat. Acad. Sci. *34*, 435 (1948).

[2] N. Fries, Nature *159*, 199 (1947).

[3] J. Lederberg, and E. L. Tatum, J. Biol. Chem. *165*, 381 (1946). – B. D. Davis, Arch. Biochem. *20*, 166 (1949).

[4] G. L. Hobby, K. Meyer, and E. Chaffee, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *50*, 281 (1942).

this laboratory[1] and by LEDERBERG and ZINDER[2]. After isolation, the growth requirement of a mutant can be simply determined by distributing tiny drops of solutions of nutrilites on the surface of a heavily seeded pour plate[3] (BEIJERINCK's "auxanography").

Since the publication of this method, a modification has been introduced which substantially improves its efficiency. Instead of inoculating the washed organisms directly into minimal medium containing penicillin, the inocula are placed in a medium lacking nitrogen. After 4 to 6 hours of incubation, during which dissimilation of glucose promotes the exhaustion of stored metabolites, the minimal medium is completed by addition of ammonium sulfate. Penicillin is added, and the procedure is continued in the usual way. The period of dissimilation particularly improves the recovery of certain vitamin-requiring mutants.

Although the penicillin method provides a marked improvement in the efficiency of isolating mutants, it nevertheless has serious limitations. The population density cannot be indefinitely large, as is possible with the drug-resistant mutants, for at population densities above 10^5 to 10^7 cells per ml, the non-mutants release enough of various metabolites ("syntrophism"; cf.[4]) to permit certain mutants to grow slightly and hence be sterilized by penicillin. In addition, even at low population densities the recovery of mutants is not quantitative. Finally, the use of this method for estimating mutation rates is limited by the requirement of a stage of intermediate cultivation between the irradiation and the exposure to penicillin, in order to permit phenotypic expression of the induced mutation. During this cultivation, the distribution of the population will undoubtedly be distorted.

Delayed phenotypic expression

The requirement of a certain amount of growth for the phenotypic expression of an induced mutation is itself an interesting point, and has also been reported for phage-resistance[5]. The explanation, at least with the nutritionally deficient mutants, appears to be that the cell must undergo some growth, possibly several generations, before the premutational products of the mutated gene (enzymes; possible intermediates between genes and enzymes) are exhausted. Only then will the pattern of enzymes in the cell correspond to the new pattern of genes. For this particular mechanism of delayed phenotypic expression we have proposed the term "phenomic delay"[6], the "phenome" being defined as the total non-self-reproducing part of the cell, under the control of the self-reproducing genes. The occurrence of the same phenomenon in mutations in the reverse direction will be discussed later.

Other possible explanations of the requirement of intermediate cultivation in the penicillin method include segregation of mutant and non-mutant nuclei from a multinucleate cell, and a syntrophic effect of the non-viable irradiated bacteria, which would promote sterilization of mutants by penicillin. Evidence will be published elsewhere that neither of these mechanisms furnishes an adequate explanation, while the phenomic delay accounts for all the available facts. A similar conclusion was reached by Newcombe in a thorough analysis of delayed phenotypic expression of phage resistance[1].

Biochemical advantages of bacteria

Bacteria are less easily studied genetically than molds such as Neurospora, which can be made to multiply sexually or asexually at will. While genetic recombination in bacteria has recently been demonstrated by TATUM and LEDERBERG[2], it apparently occurs in only a few strains and a tiny proportion of the population. For biochemical investigation, however, bacteria appear to have several advantages. Not only can a variety of mutants be isolated relatively quickly, but it is possible to demonstrate very simply, by the syntrophic interaction of adjacent streaks on solid media, the instances in which one mutant accumulates a metabolic intermediate which is utilized as a nutrilite by another mutant. Metabolite accumulations, when present, are extremely useful in analysing biosynthetic pathways[3].

A further advantage of bacteria is the uniformly dispersed growth of certain species in liquid media, which permits simple and precise quantitative experiments, using colony counts for low population densities and turbidimetry for high densities. On solid media, the production of uniform colonies has made possible a variety of experiments involving prolonged cultivation, without risk of confusion from back-mutants, which are readily distinguished from the rest of the population. In addition, slight variations in colony size and syntrophism have made it possible to recognize unexpected phenomena which might easily have gone unnoticed in a mycelial mat. Finally, in relation to chemotherapy, the metabolism of bacteria is of particular interest. Although some of the problems to be described here are still under investigation, it seems desirable to illustrate at this time the types of phenomena that can be revealed by these primitive techniques, especially by the test for syntrophism. This effect has been long

[1] B. D. DAVIS, J. Amer. Chem. Soc. *70*, 4267 (1948); Proc. Nat. Acad. Sci. *35*, 1 (1949).

[2] J. LEDERBERG, and N. J. ZINDER, Amer. Chem. Soc. *70*, 4267 (1948).

[3] J. LEDERBERG, J. Bact. *52*, 503 (1946). – G. PONTECORVO, J. Gen. Microbiol. *3*, 122 (1949).

[4] J. LEDERBERG, J. Bact. *52*, 503 (1946).

[5] M. DEMEREC, and R. LATARJET, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *11*, 38 (1946).

[6] B. D. DAVIS, Proc. Nat. Acad. Sci. *35*, 1 (1949).

[1] H. B. NEWCOMBE, Genetics *33*, 447 (1948).

[2] E. L. TATUM, and J. LEDERBERG, J. Bact. *53*, 673 (1947). – J. LEDERBERG, Genetics *32*, 505 (1947).

[3] N. H. HOROWITZ, J. Biol. Chem. *162*, 413 (1946).

known in microbiology as the satellite phenomenon; systematically employed, it has been our vade-mecum.

Mutants obtained

Mutants of *E. coli* ("Waksman" strain[1], Amer. Type Culture Collection 9637) have been obtained with requirements for all the naturally occurring amino acids except alanine, aspartic acid, and hydroxyproline. A number of mutants respond to either serine or glycine; thus far, none of our strains has been specific for either of these interconvertible amino acids. The sulfur-deficient mutants, which are a very common class, respond to cystine or less rapidly to methionine, and are blocked in the reduction of sulfate to sulfite or of sulfite to thiosulfate or sulfide. In addition, there are mutants, unresponsive to thiosulfate or sulfide, with specific requirements for cystine and others for methionine. Besides specific proline-requiring mutants, there are others which respond to either proline or glutamic acid or α-ketoglutaric acid (but not ornithine).

Many of these types of mutants have already been isolated from *E. coli* by earlier techniques[2]. In addition, we have isolated strains with more complex requirements which should throw light on certain metabolic relationships. Alternative requirements exist for lysine or threonine, and, in another mutant, for α-amino butyric acid or isoleucine (or, curiously, D-threonine but not L-threonine). One peculiar mutant responds either to methionine or to thiamine: to methionine in the concentrations of several micrograms per ml usual for amino acid mutants; to thiamine or its pyrimidine in the concentrations, one thousandth as great, required by other thiamine mutants. Another mutant similarly requires, under special conditions, either methionine or vitamin B-12. Finally, there are several mutants with a multiple requirement apparently due to a single genetic block: isoleucine plus valine; phenylalanine plus tyrosine; phenylalanine plus tyrosine plus tryptophan; and these three aromatic amino acids plus *p*-amino benzoic acid. No peptide-requiring mutants have been obtained; although much of our isolation work has been done with tryptic casein hydrolysate, which contains many peptides, all the mutants isolated from this enrichment have grown on a mixture of known amino acids. One serine or glycine mutant and one methionine mutant, like several reported Neurospora mutants, are temperature sensitive, with an absolute requirement at 37°C, and none at 25°C.

With yeast extract or hydrolysed yeast nucleic acid, mutants have been obtained with requirements for purines or pyrimidines. The purine mutants, however, have all responded to adenine or guanine or hypoxanthine or their ribosides or nucleotides, while several have also responded to xanthine; the pyrimidine mutant has responded to cytosine or thymine or uracil or their ribosides or nucleotides. Because of this non-specificity, this group has not been further studied.

Among the vitamins, mutants have been obtained with individual requirements for thiamine, nicotinamide or nicotinic acid, pyridoxin or its amine or aldehyde, *p*-amino benzoic acid (PABA), pantothenic acid, and biotin. In spite of a number of attempts, none have been obtained with requirements for riboflavin, inositol, choline, or hemin. The reason for these failures is not apparent. One mutant requiring an unknown factor in yeast extract has been obtained twice.

Microbiological assay

We have not engaged in extensive studies on the use of these mutants for microbiological assay. Since the medium employed is so simple, mutants might be expected to have some advantage over the wild-type species with complex requirements which are generally used. In addition, turbidimetric assay of bacterial growth is more convenient than the measurement of dry weight of pellicle which is required with Neurospora mutants[1]. The advantage of the mutants would be largely lost, however, if a heavily enriched medium were required in order to prevent other substances present in the material under assay from altering the quantitative response to the required nutrilite. Since secondary effects of other substances have been observed in many instances with wild-type organisms, it would be necessary with each mutant to determine the conditions for assay. Furthermore, the instability of most of the mutants requires caution. With several mutants of ordinary stability (phenylalanine, tyrosine) we have been able to obtain satisfactory growth curves, without significant appearance of reversions, at 24 hours, but by 48 hours irregular increases in turbidity due to reversions had appeared.

Syntrophism

The syntrophic technique is illustrated with three arginine-requiring mutants which are shown in Fig. 1 to be blocked at different stages in the well-known Krebs-Henseleit scheme: ornithine→citrulline→arginine. Sets of mutants of both *Neurospora* and *E. coli*, blocked at these stages, had previously been reported[2], having been recognized by their response to these precursors of arginine, In the case of growth factors whose precursors are unknown, however, and which

[1] The initiation of this work with the "Waksman" strain has been accidental. For any new program, it would undoubtedly be preferable to use the K-12 strain of *E. coli*, with which genetic recombination can be studied[3].

[2] E. L. TATUM, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *11*, 278 (1946). – B. D. DAVIS, Arch. Biochem. *20*, 166 (1949).

[3] E. L. TATUM, and J. LEDERBERG, J. Bact. *53*, 673 (1947).

[1] F. J. RYAN, Feder. Proc. *5*, 366 (1946).

[2] A. M. SRB, and N. H. HOROWITZ, J. Biol. Chem. *154*, 129 (1944). – R. R. ROEPKE, quoted by E. L. TATUM, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *11*, 278 (1946).

are therefore the most interesting, this technique of substituting precursors cannot be used, except by guesswork, to recognize differences in the site of genetic blocks. For this reason, the alternative technique of syntrophism is particularly useful. This

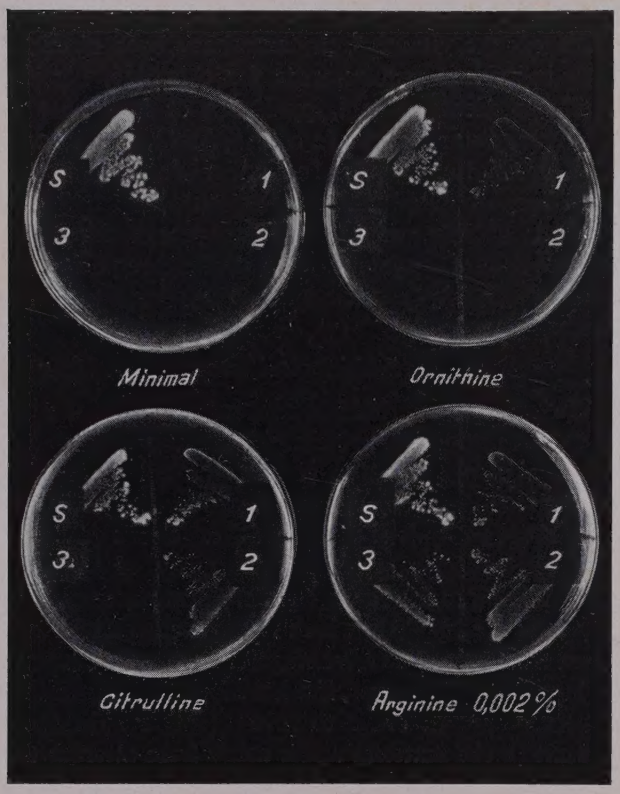


Fig. 1. – Growth of mutants and wild-type (*S* stock) on minimal medium enriched with ornithine, citrulline, or arginine. It is seen that one mutant responds to any of the three related compounds, another to either citrulline or arginine, the third to arginine only.

technique is shown in Fig. 2, in which the mutant specifically requiring arginine is seen to excrete a factor, presumably citrulline, which stimulates the growth of the two mutants blocked earlier; while the citrulline mutant in turn feeds the ornithine-requiring mutant. The gradient of observed growth reflects the gradient of diffusion through the agar.

Similar relationships, involving unknown precursors, have been observed among proline and among histidine-requiring mutants and among certain mutants requiring aromatic amino acids. Syntrophic accumulation of precursors appears to be quite widespread with *E. coli* and has been observed among sets of mutants (e. g. arginine) which fail to show accumulation in Neurospora. Its absence between two mutants with a common requirement, however, does not prove that they are blocked at the same enzymic site, since precursors may fail to accumulate because of instability, diversion along an alternative path, or the inability of the cell to build up a concentration adequate for excretion.

Causes of syntrophism

Since syntrophism leads to recognition of the accumulation of a precursor whose subsequent isolation and identification will contribute to the analysis of a biosynthetic chain, it becomes important to be aware of other possible sources of this phenomenon. Several have so far been observed.

(1) *Accumulation of the precursor of a genetically blocked reaction.* This mechanism is the one discussed above.

(2) *Excretion of metabolites by wild-type E. coli.* It is known that bacteria not only remove nutrilites from the medium, but contribute metabolic products to it. In order to find whether these include growth factors for any available mutants, the wild-type strain was streaked on minimal medium adjacent to mutants with single requirements for each of the factors listed above. After 48 hours, three of the mutants were so heavily fed as to produce maximal growth. These were the strains requiring biotin, PABA, and pantothenic acid. In addition, the nicotinamide-less mutant was moderately fed. The other available vitamin-requiring mutants (thiamine and pyridoxin), as well as a purine, a pyrimidine, and all the amino acid-requiring mutants, showed that the amounts of their required factors excreted by wild-type were negligible, supporting at most only microscopic growth after 2 to 5 days. It is concluded that this strain of *E. coli* is economical in its synthesis of all the growth factors that could be tested except four vitamins. It is of interest to note, however, that the amounts of the other factors excreted, at

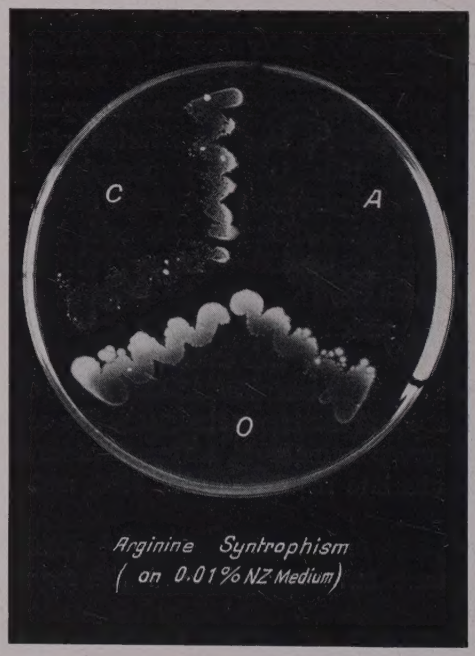


Fig. 2. – Syntrophism among arginine-requiring mutants of Fig. 1. Mutant *O* responds to ornithine or citrulline or arginine; *C* responds to citrulline or arginine; *A* responds to arginine only. 48 hours of growth (37° C) on medium enriched with very small amount of casein hydrolysate ("NZ Case").

least in the presence of penicillin, are sufficient to limit the permissible population density in the penicillin method of mutant isolation; this procedure is apparently much more sensitive to traces of syntrophism than is the technique of adjacent streaks.

(3) *Conversion of a precursor.* It has been observed that wild-type, growing on an excess of the keto acid precursor of isoleucine, will feed a mutant that responds to isoleucine but not to its keto acid. The same conversion and excretion is carried out by a mutant, blocked earlier, which can use this precursor as well as isoleucine itself. It has also been observed with wild-type acting on certain other precursors. In some reactions, however, such as the conversion of ornithine or citrulline to arginine, it has not been possible with an excess of either precursor to stimulate the excretion of arginine by wild-type or by a mutant. It is evident that the organism possesses more than one type of mechanism for determining the rate of synthesis of an amino acid; in the case of isoleucine, the capacity for amination of the keto acid exceeds the requirement, and hence cannot be the rate-governing mechanism.

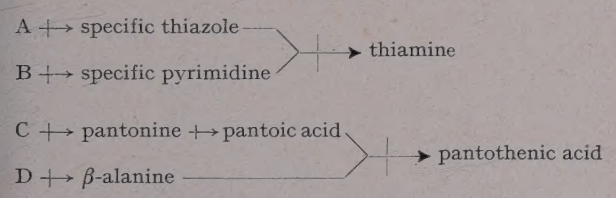


Fig. 3. – Synthesis of thiamine and pantothenic acid. Blocked arrows represent sites of genetic blocks.

(4) *Excretion of a lone conjugant.* Thiamine is composed of two moieties, a substituted thiazole and a substituted pyrimidine (Fig. 3). Thiamine-less mutants were obtained which respond respectively to the pyrimidine, to the thiazole, and to neither (implying a deficiency in the conjugation of the two); a fourth type, whose site of genetic deficiency is not readily interpreted, responds to the specific thiazole plus pyrimidine, as well as to thiamine itself, but not to either moiety alone. Tests for syntrophism showed that the thiazole-less mutant feeds the pyrimidine-less mutant, but not vice versa. Mutants with similar blocks and accumulations have been observed with Neurospora[1].

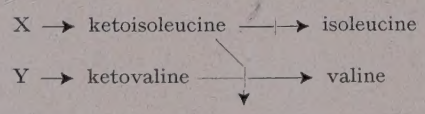
Another vitamin, pantothenic acid, also consists of two components, pantoic acid and β-alanine (Fig. 3). W. K. Maas in this laboratory has isolated various pantothenic acid-less mutants which respond respectively to pantoic acid or pantonine; to β-alanine; to pantothenic acid only; and to a mixture of pantoic acid and β-alanine. The pantoic-less mutant feeds the β-alanine-less mutant, but not vice versa.

In both these instances of syntrophism, the cause of the accumulation of the intermediate is not absence of the enzyme concerned with its further conversion, but inability of that enzyme to perform the conversion in the absence of the second conjugant.

(5) *Release of physiological brake on a synthetic process.* One of the most interesting observations to turn up is mutual syntrophism between certain tyrosine-less and phenylalanine-less mutants. Paper chromatography confirmed the inference that the block in phenylalanine synthesis resulted in excretion of tyrosine itself, rather than a precursor, while a block in tyrosine synthesis caused excretion of phenylalanine. Feeding of a tyrosine-less mutant by culture filtrates of a phenylalanine-less mutant has also been observed with another strain of *E. coli*[1].

From the presence of mutants with a double requirement for these two compounds, as well as others with triple and quadruple requirements for these plus other aromatic compounds, all resulting from single mutations, it had been inferred that phenylalanine and tyrosine arose from a common precursor (Fig. 4). A possible explanation for the mutual syntrophism therefore appeared to be the diversion of this precursor in one rather than the normal two directions, with resultant excretion of the excess of phenylalanine or tyrosine. Further study, however, showed this explanation to be inadequate, as the amount of phenylalanine (or tyrosine) excreted was much larger than the amount of tyrosine (or phenylalanine) consumed. Since the requirements of mutants of *E. coli* for these two compounds are of the same order of magnitude, simple diversion could not account for the large production.

An alternative explanation has been developed, stimulated largely by the interesting work of Bonner[2]. He showed that a single block in isoleucine synthesis, between the α-keto and the amino acid, accounted for the double requirement of a Neurospora mutant for isoleucine and valine. Apparently the accumulated isoleucine precursor competes as a structural analogue with the corresponding compound in the valine-chain, causing a requirement for this amino acid as well:



Recently Adelberg[3] has found that the compound accumulated by this mutant is not ketoisoleucine, but is rather the α-β-dihydroxy acid. The principle of internal inhibition by a normal metabolite, however remains unchanged.

This evidence of inhibition of a normal reaction by increased concentration of a normal metabolite has seemed to us to point to the possibility of a general mechanism of integration of various parallel sequences

[1] E. L. Tatum and T. T. Bell, Amer. J. Bot. *33*, 15 (1946).

[1] S. Simmonds and J. S. Fruton, personal communication.
[2] D. Bonner, J. Biol. Chem. *166*, 545 (1946).
[3] E. A. Adelberg, personal communication.

of biosynthesis. If the accumulation of normal metabolite A in excessive concentration completely blocks a certain enzymic reaction in the production of compound B, then the normal concentration of metabolite A might exert a governing effect on that reaction, while a complete absence of metabolite A, resulting from a genetic block, might permit excessive synthesis of compound B, out of proportion to the remainder of the metabolites being synthesized, with resulting excretion of compound B.

To apply this concept to the present problem, we would postulate a tyrosine precursor which interferes with phenylalanine synthesis, and vice versa. The excretion of phenylalanine would therefore be due to a block early enough in the synthetic chain of tyrosine to cause absence of that tyrosine precursor which normally governs the rate of phenylalanine synthesis, and the same consideration would apply to the phenylalanine mutant which secretes tyrosine. On the other hand, there is one tyrosine mutant which fails to feed phenylalanine; its block would occur *after* the governing intermediate (*E* in Fig. 4). This scheme is strongly supported by the fact that the excretion of phenylalanine by the tyrosine mutant is prevented in the presence of an excessive concentration of tyrosine; the same is true of the phenylalanine mutant whose excretion of tyrosine is inhibited by an excess of phenylalanine or phenylpyruvic acid, which can be substituted for phenylalanine as a growth factor for this mutant. Presumably the excess of the amino acid causes reversal of the normal processes of synthesis, restoring from without the governing compound whose synthesis is genetically blocked.

This scheme for explaining the output of phenylalanine and tyrosine is on speculative grounds, since the intermediates in the synthesis of these amino acids (except for phenylpyruvic acid) are as yet unknown. The concept of normal physiological interaction among separate biosynthetic paths, however, is further strengthened by returning to the better documented isoleucine-plus-valine case. We have isolated a mutant of this type with *E.* coli whose mechanism appears to be identical with that of the similar Neurospora mutant. In addition, another *E. coli* mutant has been isolated which responds equally well to isoleucine, its α-keto acid, or α-amino butyric acid. The double-requiring mutant, which cannot use ketoisoleucine, is known to accumulate an inhibitor of valine synthesis; the single-requiring mutant, which can use ketoisoleucine, and which is fed by the double, must be blocked earlier; it would therefore follow, from the reasoning outlined above, that the single-requiring mutant should not form the isoleucine intermediate that governs valine synthesis, and hence might be expected to excrete valine. On testing, this mutant was indeed found to feed a valine mutant heavily, and paper chromatography on the culture filtrate showed a dense spot corresponding to valine. While in this case, as in those of tyrosine and phenylalanine, neither microbiological assay nor paper chromatography alone furnishes complete proof that the compound excreted is the amino acid rather than a related compound, it seems unlikely that the non-specificity of these two techniques would overlap to give a false answer when used together.

In several instances, therefore, interference with synthesis of one amino acid leads to excessive synthesis of another. This evidence encourages us to feel that the mutants lend themselves not only to determining the normal steps in biosynthesis, but also to unravelling the mechanisms of integration by which the normal cell determines that its metabolites should be synthesized in proper proportions and not wasted. Recent experiments have shown that this economy of the organism is upset in diverse ways by a single mutation. A tyrosine mutant, for example, not only excretes phenylalanine, but also, to a smaller degree, feeds the mutants requiring tryptophan, lysine, valine, and leucine. This type of study has just begun, but it is already clear that the interrelations between various biosynthetic paths are complex (Fig. 4).

Precursors of aromatic compounds

The mechanism of biosynthesis of aromatic compounds has long been a subject of speculation. The availability of mutants with multiple aromatic requirements (Fig. 4) offers an opportunity to obtain definite information on this matter. A wide variety of aromatic compounds, with single and multiple sub-

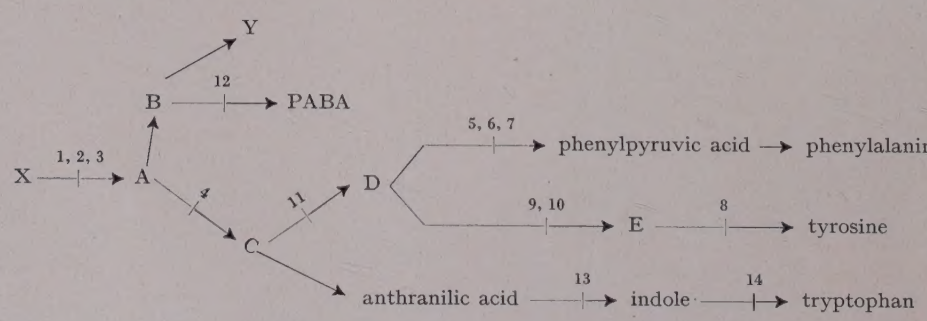
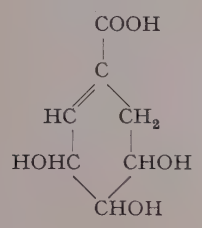


Fig. 4.–Scheme of aromatic synthesis.

tutions of carboxyl, amino, and phenolic groups, ere tested for their capacity to substitute for the ultiple requirements of the aromatic-less mutants. one of these was effective. Similarly cyclohexane rboxylic acid, cyclohexanol, and inositol were not ilized. Shikimic acid, however (suggested and furshed by R. STANIER) was used by aromatic-less utants with quadruple, but not with triple or double quirements.



shikimic acid

It therefore appears that the precursor of the benzene ng is at least partly saturated. These mutants do not e quinic acid, in which the double bond of shikimic id is hydrated.

It will be noted that Fig. 4 contains an unknown end-product", presumably aromatic, labelled Y. The idence for the existence of this postulated compound as follows. (a) The aromatic-less mutants with uadruple requirements require more PABA than does e PABA mutant, and their growth is accelerated by gh concentrations of PABA, suggesting that the nthesis of PABA may be reversed, to yield a precursor mmon to PABA and an unknown compound. (b) rowth of the aromatic-less mutants on large amounts the four aromatic compounds is slow; similarly, owth on shikimic acid alone is slow. But shikimic id plus the three amino acids yields much faster owth, practically as fast as wild-type. These results ggest that shikimic acid may occupy position B, ther than A, serving rapidly as a precursor of Y plus ABA (for which PABA alone serves only slowly), but rving only slowly, by reversal of the normal process, precursor for the amino acids.

The scheme of Fig. 4 must be considered quite ntative. Certain phenomena are difficult to explain, ch as the fact that mutants with a double aromatic quirement (tyrosine plus phenylalanine) heavily ed the quadruples, while the triple neither feeds the uadruples nor is fed by the doubles. One must therere consider more seriously the possibility, always eoretically present, that some of these multiple reuirements may depend on internal inhibition, as with leucine and valine, rather than on block at an early age of synthesis.

Partial back-mutants

Almost all the mutants are detectably unstable; at is to say, spontaneous reversions to nutritional independence (prototrophs) occur with a high enough frequency (10^{-7}–10^{-8}) to give rise after several days to a few large colonies of back-mutants in a streak on a medium which is sufficiently enriched to permit limited growth (cf. Fig. 2). For this reason practically all of our experiments, even on quantitative response, are carried out on solid media; in tubes of liquid media the greater precision of measurement by turbidimetry is accompanied by greater difficulty in distinguishing growth of back-mutants from that of parent mutants. Maintaining transfer cultures of mutants in liquid media, however, has caused no difficulty provided selection of back-mutants is avoided by the presence of an excess of the nutrient requirement.

Our study of back-mutants had a casual origin which is pointed out here since it illustrates the possibility, based on the uniform colonial growth of bacteria, of encountering interesting phenomena by simple observations on plates. Two presumptive back-mutant colonies from a PABA-less mutant were isolated and streaked on minimal medium, along with wild-type, to verify their nutritional independence. One of these grew as rapidly as wild-type; the other was by chance observed at an early time (18 hrs.) to form slightly smaller colonies than wild-type. Further study showed that the slightly slow prototroph grew as rapidly as wild-type in a medium supplemented with PABA; it apparently had recovered the capacity to synthesize PABA, but not rapidly enough to permit optimal growth.

Since PABA is one of the factors excreted by wild-type in large amounts, this hypothesis was easily tested. The two PABA back-mutants were compared with wild-type for their output of PABA on minimal medium, by pouring plates of minimal medium containing few cells of the prototroph and many PABA-requiring cells. (This technique is more sensitive to slight differences in syntrophism than is the technique of adjacent streaks.) As expected, the wild-type colonies were surrounded by an extensive halo of satellites, while the slow prototroph had none. This fact confirmed the earlier conclusion that its growth rate was limited by its rate of synthesis of PABA; it had none to spare. Unexpectedly, however, the other back-mutant, previously indistinguishable from wild-type, was surrounded by a smaller halo of satellites than was wild-type. Apparently its recovered capacity to synthesize PABA was not as great as that of wild-type.

Following this a dozen different back-mutant strains, spontaneous and ultraviolet induced, were isolated from a PABA mutant; among these 6 different rates of growth in the absence of PABA were recognized. In addition, all were more susceptible than wild-type to sulfonamide inhibition, which is not surprising since all synthesized PABA at a lower rate than wild-type. Some of the slower strains had their growth rate

restored to optimal by the addition of PABA; others did not. Similar studies were carried out with mutants requiring 6 amino acids, purines, biotin, and pantothenic acid. In all cases but one amino acid, a variety of degrees of back-mutation were observed; in only a fraction of the strains were slow growth rates restored to optimal by addition of the parent's growth requirement.

In the absence of the required genetic techniques it has not been possible to demonstrate whether these various degrees of restoration of a nutritional deficiency represent quantitative alleles of the same gene, or mutations in other genes which modify the deficiency. In the cases where the back-mutant is slow either with or without the growth factor, an allelic change seems much less likely than does a mutation of another gene which imposes a rate-limiting alteration of metabolism at the same time that it restores the deficiency. In any event, it is clear that back-mutants, which have lent themselves to quantitative genetic studies, represent a genetically very heterogeneous class. Indeed, it is not evident that any of the back-mutants are truly identical with wild-type. Perhaps they should be understood as "backward" mutants rather than true back-mutants or reversions, having mutated in the direction, but not necessarily to the precise position, of wild-type. One study of back-mutants of Neurospora[1] has failed to reveal such frequent and varied partial restorations of a deficiency. Incidentally, in this connection, it should be noted that mutations from wild-type to partial deficiencies of various factors are frequent, with Neurospora as well as with bacteria; they are not often mentioned in the literature since they have not seemed to lend themselves to genetic or biochemical analysis as well as mutants with absolute requirements.

Reversion of multiple requirements

Another genetic question, more essential for biochemical investigation, is whether certain multiple requirements arise from a single mutation and hence presumably from a change in a single enzyme. While we have not tried to solve this problem directly by recombination techniques, it has been possible to circumvent it by use of back-mutations[2]. In several instances it has been easy to obtain spontaneous prototrophs, with no growth requirements, from mutants with multiple requirements (e. g. quadruple and double aromatic), and has not been possible to obtain split reversions, with loss of only part of the requirements. From these results it is inferred that a single mutation has occurred and then reverted. In another instance, requiring histidine and the three aromatic amino acids, it has been possible, in app priate media (limited histidine, excess of the other quirements) to lose the histidine requirement alo but it has not been possible to lose all four requi ments in one step. It is therefore concluded that t mutant had been altered in two separate steps. N allelic reversions from mutant to apparent wild-ty in higher organisms have been described in which mutation of a second gene at a different locus (modif gene) restores the normal condition. In the absence a test for allelism it cannot be decided whether o reverse mutations involve a change of the same ge or of another one. It is conceivable that a mutation a modifier gene might suppress two independe growth requirements. But whatever the gene mechanism of the reversions may be, one would expe with a double mutant to recover the single bac mutants as well as the prototrophs. Complete failu to isolate the single reversions, together with isolati of the total reversions, is therefore considered excelle evidence for a single mutation producing a multi requirement. On the other hand, it should be point out that the recovery of split reversions is not conclusi evidence for the presence of independent mutatio unless it is accompanied by failure to isolate any tot reversions. With the isoleucine-plus-valine mutant, f example, one back-mutant was obtained with a relati requirement for valine (slow growth without it), b no requirement for isoleucine. Since many complete prototrophic back-mutants were also obtained fr this strain, a probable mechanism for the split reversi would be incomplete restoration of the isoleuci enzyme, leaving enough residual accumulation of t intermediate to inhibit valine synthesis.

This stress on the importance of negative as well positive results is warranted only because of the gre efficiency, essentially 100%, with which reversions nutritional independence can be isolated from hu bacterial populations.

Delayed phenotypic expression of back-mutation

The number of spontaneous back-mutant (pro troph) colonies observed on a minimal medium plate proportional to the size of the inoculated populati In a medium with limited enrichment, in contrast, t inoculum grows until the population reaches a s which is limited by the amount of enrichment; t mutants observed are therefore largely "pla mutants" (i.e., those arising during generatio occurring on the plate), and their number is, as a fi approximation, a function of the enrichment rat than the inoculum size. Following ultraviolet irrad tion, however, an entirely different situation was countered.

Ultraviolet irradiation increases the frequency back-mutants among the survivors by as much as ma

[1] N. H. Giles, Jr., and E. Z. Lederberg, Amer. J. Bot. 35, 150 (1948).

[2] R. R. Roepke, quoted by E. L. Tatum, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *11*, 278 (1946).

housandfold. Under these circumstances, the number f plate-mutants in a heavily inoculated plate with mited enrichment should be only a negligible fraction f the number of mutants inoculated. The number of traviolet induced prototroph colonies observed would herefore be expected to be relatively independent of he enrichment. To our surprise, with certain mutants he dependence was found to be extreme. With a ashed inoculum of a mutant, almost no ultraviolet-duced prototrophs could be detected unless the edium was enriched with a trace of the factor re-uired by the parent strain. To look at one instance: n inoculum of 10^8 cells of a tryptophan-requiring utant yielded 1 to 3 visible back-mutant colonies fter three days on minimal agar, and 1 to 6 colonies n agar slightly enriched with 0·01 to 0·5 γ/ml of yptophan. The suspension was irradiated until about and 50% of the cells survived, and the same volumes ere inoculated. On minimal agar, 0 to 20 colonies eveloped; on slightly enriched agar, 200 to 600! Of hese, 25 were picked at random, ranging from the rge to the microscopic. All were prototrophs, growing n minimal agar, though many of the smallest grew ery slowly. Qualitatively similar observations have een made with several amino acid, purine, and vita-in requiring mutants.

It appears that a certain amount of growth by the arent strains is necessary to permit the ultraviolet-duced back-mutants to get started. It is known, owever, that small inocula of various bacteria often il to initiate growth in a medium which is adequate r larger inocula; the small inocula are presumably nable to accumulate enough CO_2 or other essential etabolites. To rule out the possibility that the owth of the parent strain was promoting the ap-earance of back-mutant colonies by some such non-ecific mechanism, variously enriched plates were oculated with an irradiated strain, an unirradiated rain with a different requirement, and a mixture of he two. Prototrophs appeared in large numbers only om the irradiated strain, and when the medium was pplemented with its growth factor rather than that f the companion unirradiated strain.

We are therefore brought back to the consideration f the phenomic lag, introduced into this work at the tset by the initial failures of the penicillin method. It ow appears that a lag occurs not only in exhausting emutational enzymes, but also in building up new nzymes which the mutated cell is capable of construct-g; to build up the new enzyme the cell requires a mplete set of building blocks, including the product f the previously deficient enzyme. In other words, to art the cycle, the pump must first be primed. This henomenon stands in contrast to the behavior of rtain adaptive fermentative enzymes, which are re-orted to be formed by bacteria or yeasts in a nitrogen-ee medium, in which no net growth can take place.

Use of mutants in studying mechanisms of bacterial inhibition

D-Serine exerts a marked inhibitory effect on the growth of our wild-type strain of *E. coli;* many amino acids are able to antagonize the inhibition, but aspartic acid, in contrast, enhances the effect, although by itself it has no influence on growth[1]. Werner Maas, further studying this problem in this laboratory, found that the inhibition is overcome by extremely low concentrations of pantothenic acid, and by somewhat higher concentrations of β-alanine. The antagonistic action was apparently non-competitive with pantothenate and competitive with β-alanine. The results suggested that β-alanine is the substrate and pantothenate the product of the inhibited reaction. This type of inhibition analysis has been widely used to determine whether a given antagonist serves as substrate, precursor, or product of the inhibited reaction. For several reasons, however, which are discussed elsewhere[2], it seems difficult to draw rigorous conclusions as to the site of the inhibition, especially in those cases where only a narrow range of concentration of the inhibitor is possible before other reactions become affected. With appropriate mutants, on the other hand, it is possible to dissect out the system under investigation and produce more direct evidence of the site of inhibition. In addition, mutants show whether an apparent product of the inhibited reaction, acting non-competitively on wild-type, has done so in "physiological" concentrations.

Mutants blocked at various stages in the synthesis of pantothenic acid were therefore isolated (Fig. 3). A mutant blocked in the synthesis of β-alanine showed a competitive relation between β-alanine and D-serine; a mutant blocked in the synthesis of pantoic acid showed inhibition by D-serine when grown on pantoic acid, but none when grown on pantothenic acid; and a mutant blocked in the formation of pantothenic acid grew in proportion to the amount of pantothenic acid present, regardless of the presence or absence of D-serine. It has therefore been demonstrated, more conclusively than would be possible with wild-type alone, that D-serine (or a product of it) interferes with the conversion of β-alanine to pantothenic acid[2]. Similarly, salicylic acid, which is known to be antagonized by pantothenic acid[3], has been found[4] to interfere with the synthesis rather than the utilization of pantoic acid. Furthermore, several of the amino acids which antagonize D-serine inhibition of wild-type were tested against D-serine inhibition of a mutant unable to synthesize β-alanine. No antagonism of the inhibition

[1] B. D. Davis and W. K. Maas, J. Amer. Chem. Soc. *71*, 1865 (1949).

[2] W. K. Maas and B. D. Davis, to be published.

[3] G. Ivanovics, Acta Med. Szeged *12*, 1 (1944).

[4] W. K. Maas, unpublished observations.

was observed. This result indicates that these amino acids antagonize D-serine only indirectly, acting via the final common path of β-alanine synthesis. Finally, serine-resistant and salicylate-resistant mutants have been isolated and are under investigation. We feel that the pitfalls in interpreting the mode of action of antibacterial agents can sometimes be avoided by the combination of biochemical studies with the use of appropriate mutants.

In connection with the studies on pantothenic acid, certain pantothenate-requiring mutants have been observed to respond to either pantoic acid or to pantonine (the α-amino analogue of the α-hydroxy acid, pantoic acid); others respond to pantoic acid only (Fig. 3). It may be inferred that pantonine is either a normal precursor of pantoic acid, or is convertible to such a precursor.

A number of the problems described above are as yet only partly solved; yet so closely intertwined are the various metabolic sequences that each step toward a solution has revealed unexpected new problems. Herein lies much of the fascination of this field. It has been the main purpose of the present paper to illustrate the ease with which a variety of problems can be revealed and solved, up to a point, by simple methods: the isolation of desired bacterial mutants by the penicillin method, followed by direct observation of their behavior, especially with respect to syntrophism and back-mutation, on solid media. Some of the studies described in this paper will be published elsewhere in more detail.

It is a pleasure to acknowledge the expert technical assistance of Mrs. Harlean Cort and Mrs. Elizabeth Mingioli. We are grateful to W. Stein and S. Moore, R. D. Hotchkiss, V. duVigneaud, D. Bonner, N. H. Horowitz, R. Stanier, to T. Jukes of Lederle Laboratories, and to K. Folkers, M. Tishler, and E. E. Howe of Merck and Co. for generous gifts of chemicals.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, in größerer Zahl Stoffwechsel-Minusmutanten von Bakterien zu isolieren. Sie beruht auf der bemerkenswerten Eigenschaft des Penicillins, ausschließlich wachsende und sich vermehrende Bakterie abzutöten. Wird demzufolge eine große Bakterien kultur, die verschiedene, durch vorangegangene Ultra violettbestrahlung herbeigeführte Mutanten enthält, i einem eben genügenden Nährmedium der Wirkung vo Penicillin ausgesetzt, so wird die Mehrzahl der Kultur die aus den normalen Bakterien des Stammes besteht abgetötet, während die Minusmutanten, die nicht z wachsen vermögen, selektiv überleben.

Mit Hilfe dieser Technik wurden Mutanten von *E coli* mit individuell verschiedenen Ansprüchen au nahezu sämtliche Aminosäuren, Vitamine, Purine un Pyrimidine isoliert. Einzelne Mutanten mit alter nativen oder multiplen Stoffwechselbedürfnissen er laubten Einblicke in den Gang von Biosynthesen. S wachsen eine Anzahl von «ringfreien» Mutanten, di gleichzeitig Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan un Paraaminobenzoesäure benötigen, auch in alleinige Gegenwart von Shikimisäure, einem teilweise dehy drierten Derivat der Cyclohexancarbonsäure. Dies läß vermuten, daß im Organismus aromatische Verbin dungen aus wenigstens teilweise gesättigten Ringver bindungen entstehen können. Ferner ist bekannt, da der Gang einer Biosynthese durch die Isolierung vo Zwischenprodukten analysiert werden kann, die vo gewissen Mutanten angestapelt werden. Derartige An sammlungen lassen sich technisch mit Hilfe von Bak terien leicht nachweisen, wenn verschiedene Mutanten die sich gegenseitig ernähren, nebeneinander ausge strichen werden. Nicht nur werden so Stoffwechsel vorstufen (precursors) angestapelt; in gewissen Fälle führt das Unvermögen, eine bestimmte Aminosäur (z. B. Tyrosin, Phenylalanin, Isoleucin) zu syntheti sieren, zu Anhäufungen anderer Aminosäuren. Dies Beobachtung leitet zur Annahme, daß normale Zwi schenstufen einer Verbindung einen regulierenden Ein fluß auf die Synthese anderer Stoffe ausüben.

Ferner lassen sich diese Mutanten gut verwender um die Wirkungsweise bestimmter antibakterielle Wirkstoffe endgültig festzulegen. Es konnte nachge wiesen werden, daß die Umwandlung von β-Alanin i Pantothensäure durch D-Serin verhindert wird, wäh rend Salicylsäure auf die Bildung der Pantoinsäur störend einwirkt.

Durch Ultraviolettbestrahlung hervorgerufene Mu tanten, sowohl Stoffwechsel-Minusvarianten als Rück mutierungen zur Norm, brauchen eine bestimmte Zei bis sie phänotypisch erkennbar sind, was darau schließen läßt, daß sich die Fermentzusammensetzun erst nach einer Einstellungsphase der neuen Ger zusammensetzung angleicht (phenomic lag).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Zum Problem der Kernstruktur: Das $N_{10}P_6$-Modell[1]

Im Jahre 1920 erkannte P. NIGGLI[2], daß die geochemisch (und in den Meteoriten) besonders häufigen Elemente O, Si, Ca, Fe eine konstante Differenz ihrer Ordnungszahlen ($\Delta z = 6$) aufweisen. R. A. SONDER[3] dehnte 1923 diese Regel auf das ganze periodische System aus, und die Fortschritte der experimentellen Häufigkeitsforschung bestätigten diese Erweiterung im allgemeinen recht gut[4]. An einzelnen Stellen traten allerdings Unstimmigkeiten auf. So z. B. sollte nach SONDER ein Häufigkeitsmaximum bei Sr auftreten, während es nach den experimentellen Befunden beim benachbarten Zr liegt. SONDER deutete diese Diskrepanzen als korrekturbedürftige H-Zahlen[5], NIGGLI sprach von Dubletten[6].

Die genannten beiden Forscher bezogen ihre Regel ausschließlich auf die *Elementhäufigkeiten* und konnten deshalb – wie man heute sieht – nicht bis zum Kern des Phänomens durchdringen.

Der Verfasser stieß im Verlaufe von Studien über die *Isotopenhäufigkeiten*, also von einer andern Richtung kommend, mehrfach auf den gleichen Erscheinungskomplex, der sich, aus diesem Gesichtswinkel heraus gesehen, in einer neuen Gestalt zeigt:

Separiert man aus jeder Plejade das häufigste Isotop und zeichnet es in ein m,z-Diagramm ein, so erhält man eine Punktefolge, die sich enge an eine Gerade anschmiegt, die von Ca^{40} bis Po^{210} verläuft[7] (Abb. 1, *I*).

Welches ist das unbekannte Prinzip, das die Verteilung der optimalen Isotope im größten Teil des periodischen Systems mit so bemerkenswerter Stetigkeit reguliert? Letzten Endes kann es sich – wie bei allen Häufigkeitseffekten – nur um eine Äußerung der Kernstruktur handeln. In der Tat zeigt die Anordnung in einer «Geraden» unmittelbar, daß die Kerne dieser Reihe in bezug auf ihre Zusammensetzung einer einfachen Gesetzmäßigkeit folgen. Nun ist es eine Erfahrungstatsache, daß sich die H-Effekte auf die verschiedenen Kerngruppen verschieden auswirken, so daß erst die Auflösung der Isotope in Gruppen Klarheit verschafft. Diese Methode führt auch hier zum Ziel. Am einfachsten liegen die Verhältnisse bei der Gruppe mit $m = 4\,n$, an welcher hier die hauptsächlichsten Erscheinungen demonstriert werden sollen.

In der Abb. 1, *II* ist für jede Plejade das häufigste $4\,n$-Isotop im $(N\text{-}z),z$-Diagramm eingezeichnet (Vollkreise). Man sieht sofort, daß die dichtest besetzte Reihe optimaler Isotope von Ca^{40} zu Hg^{200} verläuft. *Sie ist in ihren Ordnungszahlen im wesentlichen identisch mit der* SONDER*schen Reihe der maximalhäufigen Elemente.* Die oben (als Beispiel) erwähnte Unstimmigkeit bei Sr/Zr verschwindet durch die Gruppentrennung: die ($m = 4\,n$)-Gruppe hat ihr H-Maximum im Sr ($Sr^{88} > Zr^{92}$), die ($m = 4\,n + 2$)-Gruppe dagegen im Zirkonium (Zr^{90}).

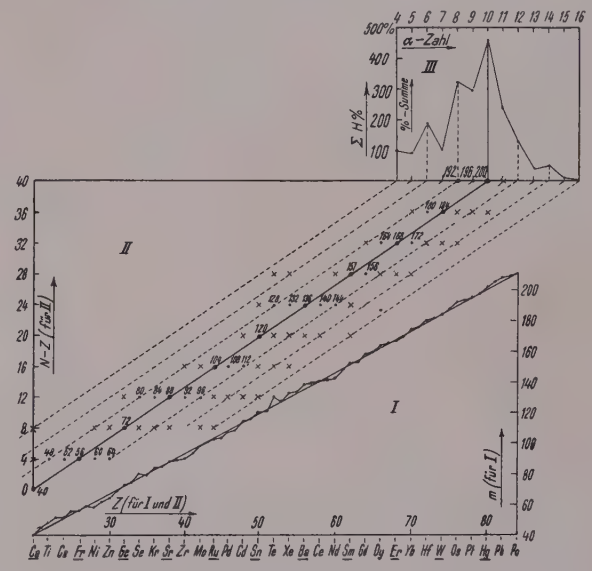


Abb. 1. *I* Die Massenzahl des häufigsten Isotops je Element als Funktion der Ordnungszahl. Die Einzelwerte streuen um die Gerade Ca^{40}–Po^{210}.

II Das häufigste ($m = 4n$)-Isotop je Element im $(N\text{-}z),z$-Diagramm (Vollkreise). Die übrigen Isotope dieser Familie sind angekreuzt. – Die dichtest besetzte Reihe ist Ca^{40}–Hg^{200} und hat von Glied zu Glied die Differenz $10\,N + 6\,P$.

III Die %-Summe der Isotope konstanter α-Zahl als Funktion dieser α-Zahl. Minima bei ungeraden und Maxima bei geraden α-Zahlen, abs. Max. bei 10 α.

Neu ist, daß zur konstanten Protonendifferenz *6* eine konstante Neutronendifferenz *10* hinzutritt (daher $\Delta m = 16$). Wir ziehen daraus den Schluß, *daß subnukleare Baueinheiten der Zusammensetzung* $N_{10}P_6$ *eine wichtige Rolle im Kernbau spielen.*

Die Kerne mit $m = 4\,n$ zeichnen sich vor allen andern dadurch aus, daß sie neben $N_{10}P_6$-Komplexen nur noch eine gewisse Anzahl N_2P_2-Komplexe (α-Teilchen) enthalten, z. B. $Fe^{56}_{26} = 10\,N_2P_2 \cdot N_{10}P_6$; $Se^{80}_{34} = 8\,N_2P_2 \cdot 3N_{10}P_6$ usw.

Berechnen wir auf der Basis dieses Modells für die einzelnen Kerne die α-Teilchen-Zahlen, so ergibt sich für die Reihe Ca^{40}–Hg^{200} die konstante Zahl *10*. Offensichtlich verdankt diese Reihe ihre überragende Stabilität nur diesem Umstand, ein Hinweis darauf, daß die Zahl der α-Teilchen von großem Einfluß auf die Kernstabilität ist. Dies veranlaßt uns, diese Frage in

[1] Vorläufige Mitteilung. Abkürzungen in Text und Abbildungen: z Ordnungszahl, m Massenzahl, n ganze Zahl, H Häufigkeit, N Symbol für Neutron, auch Neutronenzahl, P Symbol für Proton, auch Protonenzahl. Die Kernformeln werden nach Art der chemischen Formeln geschrieben.

[2] P. NIGGLI, *Die leichtflüssigen Bestandteile im Magma* (Leipzig 1920).

[3] R. A. SONDER, Z. Krist. *57*, 611 (1923).

[4] R. A. SONDER, Naturw. *18*, 939 (1930).

[5] R. A. SONDER, Z. anorgan. Ch. *192*, 257 (1930), und Schweiz. min.-petr. Mitt. *28*, 528 (1948).

[6] P. NIGGLI, Fennia 50, Nr. 6 (Helsingfors 1928).

[7] Für $z > 80$ ergibt sich eine Parallele, die durch Th^{232} geht.

ihrer Allgemeinheit zu untersuchen, indem wir die %-Summe der Isotope jeder Reihe mit konstanter α-Zahl, als Funktion dieser Zahl auftragen (Abb. 1, *III*). Wir erhalten eine oszillierende Kurve mit Minima bei ungeraden und Maxima bei geraden α-Zahlen, das absolute Maximum liegt bei 10 α. Die strukturtheoretische Deutung dieses Ergebnisses ist naheliegend: *es kann sich nur um die stark exotherme Verdopplung der α-Teilchen zu N_4P_4-Komplexen handeln.* Diese Verdopplungstendenz bestätigt sich noch in manch anderer Hinsicht, u.a. im N_4-Effekt[1].

Da die der Abb. 1, *III* zugrunde liegenden α-Zahlen aus dem $N_{10}P_6$-Modell[2] berechnet wurden, ist dieser Kurvenverlauf ein beachtenswerter Beleg für die Stichhaltigkeit dieses Modells.

Zum Schluß seien noch übersichtshalber die wichtigsten Kerntypen der $4n$-Familie formuliert:

Minderstabile Kerne:	$(N_4P_4)_x \cdot (N_2P_2) \cdot (N_{10}P_6)_y$
Stabile:	$(N_4P_4)_x \cdot (N_{10}P_6)_y$
Höchststabile:	$(N_4P_4)_5 \cdot (N_{10}P_6)_y$,
	wobei $y = 0$ bis 10.

Über die entsprechenden Verhältnisse bei den übrigen Kerngruppen, die Zusammenhänge mit dem N_8P_4-Körper[3], die Überlagerung mit dem N_4-Effekt usw. wird eine in Vorbereitung befindliche ausführliche Arbeit des Verfassers berichten.

O. MONECKE

Tyrolitwerke, Wattens in Tirol (Österreich), den 20. Oktober 1949.

Summary

It is shown that the rule of NIGGLI and SONDER can be interpreted as a structure effect when the isotopes are divided into groups and families. On the basis of the family with $m = 4n$ it is demonstrated that the phenomena can be understood on the hypothesis that the nuclei of this family are composed only of $N_{10}P_6$- and N_2P_2-bodies. The latter incline to duplication, so that even numbers of N_2P_2-bodies, and especially the number 10, lend the nucleus increased stability, as can easily be proved statistically.

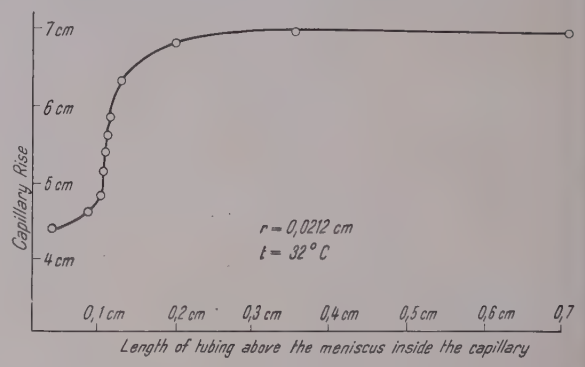
[1] O. MONECKE, Exper. *5*, 232 (1949) und Z. Naturforschung, im Druck.
[2] Damit ist das hier skizzierte Kernmodell gemeint.
[3] O. MONECKE, Exper. *5*, 440 (1949).

Dependence of Capillary Rise on the Length of Capillary[1]

Working with two superposed layers of water—benzene system, I had difficulty in obtaining reproducible values for the capillary constant of the aqueous layer. This could have been due to the difficulty in establishing equilibrium between the saturated liquid and its vapor. To minimize this effect I began to work with short capillaries. The capillary rise began to diminish with flattening of the meniscus. Several cm of length of the capillary above the meniscus within it were necessary to reach the maximum value of the capillary rise. Further increase has no more effect. As $d\gamma/dC$ (where γ is surface tension and C the concentration) in the aqueous layer is enormous, a part of the effect may be due to the change of concentration.

Experiments with pure water, made by R. J. CONAN in my laboratory at Fordham University, showed a similar effect, only the length of the capillary above the meniscus to give maximum rise was found about 0·2 cm.

Such an effect is apparently shown by polar liquids, liquids like benzene do not show it appreciably.



Capillary rise at the interface water—ether definitely showed dependence on the length of the capillary. The described phenomenon does not appear to be comprised by the classical theory. 0·2 cm is well above the magnitude of the radius of molecular action, beyond which the attractive forces are no longer supposed to be effective. It appears to be evidence of long-range force.

The adjoining figure was obtained for distilled water at 32 *C*, with the radius of capillary r 0·0212 cm. The horizontal part of the curve corresponds to the value of surface tension 71·2 dynes per cm.

GEORGE ANTONOFF

Fordham University, New York, N.Y., October 15, 1949.

Zusammenfassung

In gewissen Fällen erwies sich die Steighöhe einer Flüssigkeit als von der Länge der Kapillare abhängig, in der diese Steighöhe gemessen wurde. Nur wenn die Länge des von der Flüssigkeit freien Kapillarenteils einen gewissen Betrag übersteigt, werden die normalen Steighöhen sowie normale Meniskusformen beobachtet; wenn diese Länge den kritischen Wert nicht erreicht, sind bei einzelnen Flüssigkeiten die Steighöhen kleiner als normal und die Menisken flach.

Man muß daraus offenbar auf das Wirken von sonst nicht berücksichtigten Fernkräften schließen.

[1] G. ANTONOFF, Rec. Trav. chim., Pays Bas, nov. 1949.

Structure de la chitine et de l'acide hyaluronique et oxydation des sucres aminés par l'ion periodate

La détermination de la structure des polysaccharides contenant un sucre aminé par oxydation avec l'ion periodate n'a été que peu employée jusqu'ici[1], malgré son application très répandue dans la chimie des hydrates de carbone. La consommation d'oxydant varie beaucoup avec les conditions de p_H et de température employées, rendant peu certaines les conclusions qui en sont déduites.

Par l'étude de l'oxydation de la *d*-glucosamine, de la *N*-acétyl-*d*-glucosamine, de l'α-méthyl-*d*-glucosaminide et de l'α-méthyl-*N*-acétyl-*d*-glucosaminide, nous avons

[1] KURT H. MEYER, M. E. ODIER et A. E. SIEGRIST, Helv. chim. acta *31*, 1400 (1948). – D. AMINOFF et W. J. T. MORGAN, Biochem. J. *44*, Proc. xxi (1949).

:abli des conditions dans lesquelles l'oxydation est :productible. Lorsque celle-ci est effectuée à un p_H ıférieur à 5 et à une température inférieure à 5°, la ɔnsommation d'oxydant est d'une molécule pour deux roupes alcooliques voisins ou pour un groupe amino-lcool. Par rapport à l'oxydation à température am-iante, la vitesse n'est que peu réduite, alors que les xydations secondaires sont presque totalement élimi-ées; les courbes de consommation de periodate pré-ɜntent des paliers définis.

En présence d'un très large excès d'oxydant, la -glucosamine emploie 5,0 molécules de periodate et bère 4,0 molécules d'acide formique; nous avons obtenu ,6 molécule d'ammoniaque par distillation en présence 'oxyde de magnésium, alors que la valeur obtenue par mple entraînement est de 0,3 molécule[1]. La *N*-acétyl-glucosamine emploie 4,7 molécules d'oxydant, avec bération de 2,4 molécules d'acide formique, mais sans bération d'ammoniaque; ceci indique une scission ɔmplète entre C_2 et C_3 et partielle entre C_1 et C_2. L'α-ıéthyl-*d*-glucosaminide emploie de 2,0 à 2,5 molécules 'oxydant avec libération de 1,4 molécule d'acide for-ıique et 0,6 molécule d'ammoniaque. L'α-méthyl-*N*-cétyl-*d*-glucosaminide emploie 1,0 molécule d'oxydant ans libération d'acide formique ou d'ammoniaque.

La constitution de la chitine a été partiellement tablie par dégradation[2] et déduite par l'observation des pectres de rayons X[3] comme étant un polymère en haîne de la *N*-acétyl-*d*-glucosamine, possédant des aisons β 1–4. La chitine native ou la chitine reprécipitée 'une solution dans l'acide phosphorique utilisent 0,1 ıolécule d'oxydant avec libération de 0,02 molécule 'acide formique par période. La désacétylation de la hitine, accompagnée d'une très forte dégradation, ɔurnit le chitosane qui emploie de 1,3 à 1,9 molécule 'oxydant avec libération de 0,1 à 0,2 molécule d'acide ɔrmique et 0,6 molécule d'ammoniaque par période. es résultats confirment la présence des liaisons 1–4, insi que le caractère non ramifié de la chitine.

L'acide hyaluronique isolé des cordons ombilicaux umains et débarrassé du polysaccharide sulfate qui accompagne utilise de 0,2 à 0,3 molécule d'oxydant vec libération de 0,1 molécule d'acide formique par ériode, après un contact d'une centaine d'heures. Le raitement alcalin de l'acide hyaluronique nous a fourni n produit dégradé dont la moitié des groupes acétyles vaient été éliminés. Oxydé par le periodate, il en a con-ɔmmé 0,8 à 1,0 molécule par période, sans libération 'ammoniaque. Cette oxydation correspond à celle de extrémité des chaînes d'un polysaccharide formé d'en-iron 10 unités. Ces résultats suggèrent comme formule ı plus logique pour l'acide hyaluronique, celle d'un olymère non ramifié formé d'acide *d*-glucuronique et de '-acétyl-*d*-glucosamine liés en position β 1–3.

Cette structure serait similaire à celle de l'acide hondroïtine sulfurique[4] qui accompagne la plupart du emps l'acide hyaluronique dans les tissus.

Les détails de ce travail seront publiés dans un autre ériodique.

R. Jeanloz

The Worcester Foundation for Experimental Biology, hrewsbury, Mass., le 2 décembre 1949.

[1] D. D. van Slyke, Alma Hiller et D. A. MacFayden, J. Biol. hem. *141*, 681 (1941).
[2] M. Bergmann, L. Zervas et E. Silberkweit, Ber. Dtsch. hem. Ges. *64*, 2436 (1931).
[3] K. H. Meyer et G. W. Pankow, Helv. chim. acta *18*, 589 (1935).
[4] Kurt H. Meyer, M. E. Odier et A. E. Siegrist, l. c.

Summary

The results of the periodate oxidation of *d*-glucosamine, *N*-acetyl-*d*-glucosamine, methyl α-*d*-glucosaminide and methyl *N*-acetyl-α-*d*-glucosaminide at a p_H lower than 5 and at a temperature lower than 5° were in good agreement with the theory, thus eliminating the possibility of the occurrence of side-reactions.

Using these conditions of periodate oxidation the structure of chitin was confirmed to be a continuous chain of *N*-acetyl-*d*-glucosamine residues connected through β 1–4 linkages. The structure of hyaluronic acid was established as a non-ramified polymer of *d*-glucuronic acid and *N*-acetyl-*d*-glucosamine residues connected through β 1–3 linkages.

Die Natur des induktiven Elements in biologischen Membranen

Registriert man den Verlauf des Membranpotentials nach Ein- und Ausschalten eines unterschwelligen Gleichstroms, so findet man unter besondern Bedingungen (erniedrigtes Ruhepotential, $Ca^{\cdot\cdot}$-Entzug) ein anfängliches Überschießen des Potentials, gefolgt von einem mehr oder weniger gedämpften Einschwingen auf den neuen Gleichgewichtswert. Solche Schwingungen sind seit der ersten Beobachtung durch Adrian und Gelfan[1] für sehr verschiedenartige Zellen beschrieben worden (Lit. zit. bei Arvanitaki[2] und Lorente de Nó[3]). Cole und Baker[4] haben die biologische Membran ihrem Verhalten nach mit einem technischen Schwingkreis verglichen und eine Schaltung nach Abb. 1 vorge-

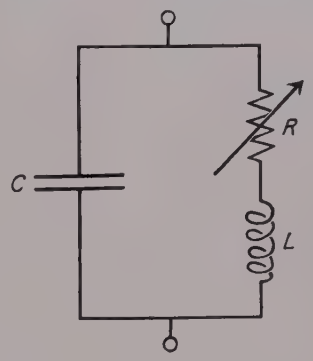


Abb. 1.

schlagen. Die Kapazität *C* dieses stark gedämpften Schwingkreises wäre mit der Doppelschichtkapazität der Plasmamembran zu vergleichen; die Gleichstromkonduktivität *R* mit der Permeabilität der Membran gegenüber Ionen. Auch für die Veränderlichkeit der Konduktivität als Funktion des Membranpotentials (Gleichrichtereffekt) liegt eine mögliche Erklärung vor (Blinks[5] Goldmann[6]). Eine Interpretation des induktiven Elements *L* stieß anfänglich auf größte Schwierigkeiten[7].

1947 schlug Cole[8] vor, die Induktivität als *eine dem Gleichrichtereffekt selbst innewohnende Trägheit* aufzufassen (delayed rectification). Nach seiner Darstellung würden die verschiedenen Ionenarten im Innern der Membran bei Änderung der Stromstärke eine neue

[1] E. D. Adrian und S. Gelfan, J. Physiol. *78*, 271 (1933).
[2] A. Arvanitaki, Arch. int. Physiol. *53*, 533 (1943).
[3] R. Lorente de Nó, Stud. Rockefeller Inst. Med. Res. *131* und *132* (1947).
[4] K. S. Cole und R. F. Baker, J. Gen. Physiol. *24*, 771 (1941).
[5] L. R. Blinks, J. Gen. Physiol. *14*, 127 (1930).
[6] D. E. Goldmann, J. Gen. Physiol. *27*, 37 (1944).
[7] K. S. Cole, J. Gen. Physiol. *25*, 29 (1941).
[8] K. S. Cole, *Four Lectures on Biophysics* (Rio de Janeiro, 1947).

Verteilung annehmen (Gleichrichtereffekt), jedoch zur Erlangung des Gleichgewichtes eine gewisse Zeit beanspruchen. Es läßt sich theoretisch zeigen, daß ein solcher Vorgang eine Induktivität vortäuscht, falls eine Zunahme der Stromstärke den Membranwiderstand erniedrigt. Umgekehrt macht sich scheinbar eine Kapazität geltend, falls eine Zunahme der Stromstärke den Membranwiderstand mit einer gewissen Verzögerung erhöht. TEORELL ist zur selben Ansicht gekommen[1] und hat deren Richtigkeit an künstlichen Membranen direkt beweisen können[2].

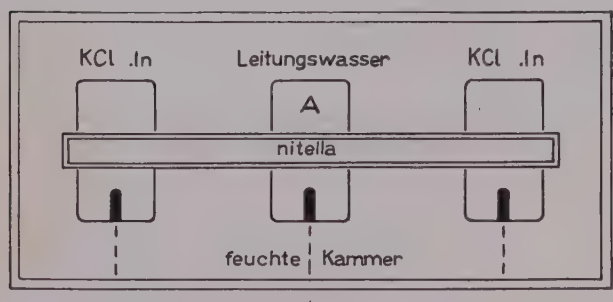


Abb. 2.

Die vorliegende Mitteilung enthält Anhaltspunkte dafür, daß auch das induktive Element in der *biologischen* Membran als ein Nachhinken des Gleichrichtereffekts zu deuten ist. Als Versuchsobjekt wurde die Süßwasseralge *Nitella flexilis* verwendet. Einzelne, isolierte Zellen

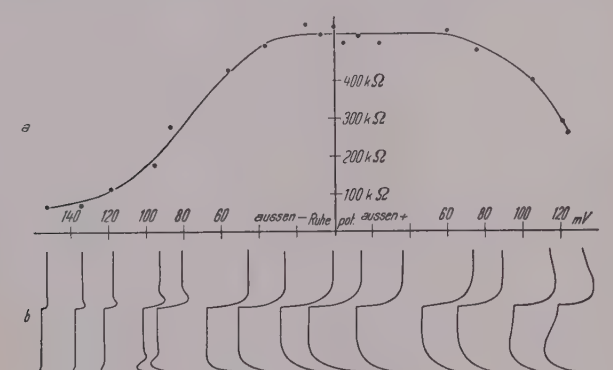


Abb. 3*a*. Membran-Gleichstromwiderstand als Funktion des gemessenen Potentials. *b* Entsprechende Potentialzeitkurven beim Ein- und Ausschalten eines konstanten Zusatzstroms (Flußdauer 35 sec).

sind dank ihrer Dimensionen (5 cm lang, ½ mm dick) besonders leicht zu handhaben. Eine Anordnung nach Abb. 2 erlaubt es, das Ruhepotential in *A* nach Wunsch zu verändern (*P*) und außerdem das Verhalten der Plasmamembranen durch Ein- und Ausschalten eines relativ geringen Zusatzstroms zu prüfen (*T*). Abb. 3*b* zeigt typische Potentialzeitkurven, die in verschiedenen Lagen des (mittleren, gemessenen) Ruhepotentials erhalten wurden. Ist die Stärke des Zusatzstroms bekannt (ΔI), so läßt sich aus dem Gleichgewichtswert der gemessenen Potentialänderung (ΔE) auf den scheinbaren Membran-Gleichstromwiderstand schließen ($R = \Delta E / \Delta I$, als Abb. 3*a* aufgetragen). Die Anordnung ist an anderer Stelle ausführlicher beschrieben[1].

Ein Vergleich zwischen Abb. 3*a* und 3*b* zeigt, *daß das stärkste Überschießen des Potentials in die Gegend der steilsten Stelle der Gleichrichterkurve fällt.* Von einer Schaltung mit konstanter Induktivität (Abb. 1) müßte ein anderes Verhalten gefordert werden: je geringer der Gleichstromwiderstand, desto höher das anfängliche Überschießen, desto größer die Tendenz zu ungedämpften Schwingungen. Eine quantitative Voraussage von Potentialzeitkurven, a) unter der Annahme einer konstanten Induktivität und b) einer dem Gleichrichtereffekt *selbst* innewohnenden Trägheit, stößt vorläufig auf unüberwindbare Schwierigkeiten mathematischer Art. Es soll deshalb von den mitgeteilten Resultaten lediglich ausgesagt werden, daß sie gegen das Vorhandensein einer konstanten Induktivität sprechen (Abb. 1), daß sie jedoch mit der zweiten Auffassung in einer qualitativen Weise in Einklang stehen.

Am Warmblüternerven hat LAGET[2] ähnliche Verhältnisse gefunden: mit progressiver Depolarisation zuerst wachsende Tendenz zu Schwingungen (der Erregbarkeit), dann Erreichen eines Maximums und schließlich, – bei noch stärkerer Depolarisation –, Abnahme der Schwingungstendenz. Leider fehlen gleichzeitige Beobachtungen über das Verhalten des Membranwiderstandes, so daß eine Gleichsetzung der Befunde am Nerven und an *Nitella* nicht ohne weiteres möglich ist.

Die Bedeutung, die einem «Nachhinken des Gleichrichtereffekts» für den Erregungsvorgang zukommen könnte, wird am besten aus einer in Kürze erscheinenden Arbeit von HODGKIN, HUXLEY und KATZ[3] hervorgehen.

Die beschriebenen Versuche stammen aus dem Physiologischen Institut in Upsala. Die Abfassung der Mitteilung fällt in die Zeit, da ich ein Stipendium der «Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien» innehabe.

S. WEIDMANN

Physiological Laboratory Cambridge, den 31. Juli 1949.

Summary

A weak "rectangular" current is passed through a single cell of the alga *Nitella* at different levels of the resting potential (Fig. 2). Voltage-time curves (Fig. 3*b*) are compared with the rectifier characteristics of the same cell (Fig. 3*a*). The results argue against the presence of an inductive element having a constant value (7, Fig. 1) but favour the suggestion (*8, 9, 10*) that the apparent inductance has the nature of "delayed rectification".

[1] T. TEORELL, Nature *162*, 961 (1948).
[2] T. TEORELL, *Symposium d'électrophysiologie* (Paris, Centre national de la Recherche scientifique, im Druck (1949).

[1] S. WEIDMANN, Acta physiol. Scand. *19*, im Druck (1949).
[2] P. LAGET, *Symposium d'électrophysiologie* (Paris, C.N.R.S., im Druck, (1949).
[3] A. L. HODGKIN, A. F. HUXLEY und B. KATZ, *Symposium d'électrophysiologie* (Paris, C.N.R.S., im Druck, 1949).

Chromosomenzahlen stenoglosser Prosobranchier

In der umfangreichen Literatur zur typischen und atypischen Spermatogenese der Prosobranchier sind vielfach Chromosomenzahlen von Stenoglossen (Rhachiglossen) mitgeteilt worden. Eigene Befunde, die sich auf die Eier teils derselben Arten beziehen, stehen mit mehr

eren solcher Literaturangaben in Widerspruch. Die ier mitgeteilten Haploidzahlen von acht Arten wurden m Verlauf einer vergleichenden Untersuchung über die Nähreier mariner Prosobranchier gewonnen; sie sollen lie irrtümlichen Angaben einiger Spermatogenese-rbeiten richtigstellen und zugleich die ersten gültigen Chromosomenzahlen von stenoglossen Prosobranchiern ermitteln.

	N
Muricacea:	
Muricidae	
Murex trunculus	35
Purpura lapillus	18
Ocinebra erinaceus	35
Buccinacea:	
Columbellidae	
Columbella rustica	34
Buccinidae	
Buccinum undatum	35
Euthria cornea	35
Pisania maculosa	35
Fasciolariidae	
Fasciolaria lignaria	35

Da viele der aufgeführten Arten in ihrer Benennung und systematischen Stellung sehr umstritten sind, richtet sich die hier befolgte Nomenklatur der Klarheit halber nach Arbeiten nichtsystematischen Inhalts.

Die Zahlen beziehen sich auf die Populationen der nähern Umgebung von Roscoff (Bretagne) für die atlantischen Arten (*Purpura, Buccinum, Ocinebra*) und auf jene des Golfes von Neapel für die fünf mediterranen Spezies. Zur Untersuchung gelangten ausschließlich die Eier in den Spätstadien der Oogenese und in frühen Furchungsphasen. Die Auszählungen wurden entweder an der ersten meiotischen Metaphase vorgenommen, (Abb. –4), oder – bei einem Teil der Arten – an haploiden Eiätzen unbesamter Eier, deren Vorkommen mit dem Nährierphänomen in Zusammenhang steht. Unbesamte Eier ollenden ihre Reifeteilungen und bilden einen weibchen Pronucleus. Dessen Chromosomen gelangen zu etaphasischer Kondensation, so daß die Haploidzahl irekt bestimmbar wird. Ohne Bildung einer Furchungsspindel ordnen sich die Chromosomen entweder radiär oder peripher am animalen Pol an (Abb. 5, 6); hieran schließt sich degenerativer Zerfall des Eies. – Diploide Furchungsmitosen sind nur in seltensten Fällen exakt auswertbar.

bb. 1. *Murex trunculus*, erste Metaphase der Oogenese. 1400 ×.

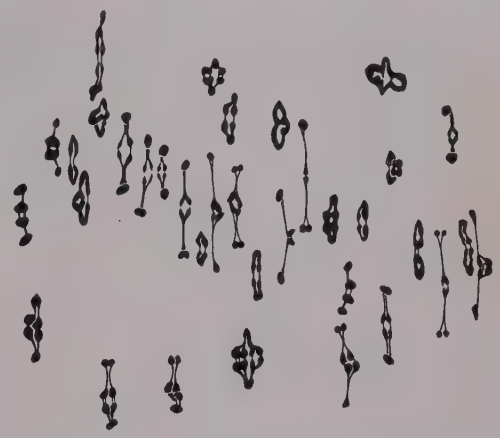


Abb. 2. *Ocinebra erinaceus*, erste Metaphase der Oogenese. 1900 ×.

Die Haploidwerte in zahlreichen Spermatogenesearbeiten, die für die Metaphase der ersten meiotischen Teilung der Spermienreifung gelten sollen, weichen von den obigen Zahlen in der Regel stark ab. Für *Murex trunculus* geben TUZET[1] und CAPUIS[2] eine Haploidzahl $N = 14$ an, und in mehreren andern Publikationen über

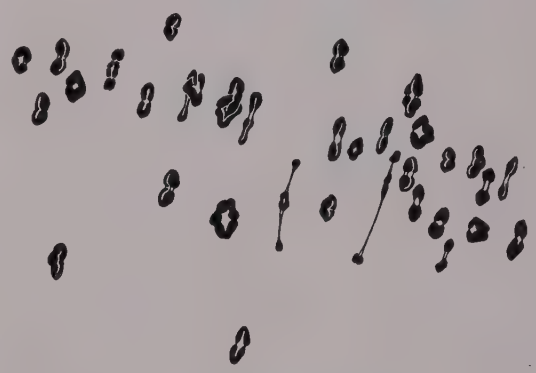


Abb. 3. *Euthria cornea*, frühe erste Metaphase der Oogenese. Vier Bivalente mit Interlocking. 1400 ×.

dieselbe Art schwanken die entsprechenden Werte zwischen 12 und 18. Durch Auszählung der Chromosomen in männlichen Pronuclei läßt sich die Unrichtigkeit dieser Angaben direkt erweisen; in Übereinstimmung mit den Oogenesewerten ergibt sich $N = 35$. Die Literaturangaben über Chromosomenzahlen von *Columbella rustica* (SCHITZ[3] und TUZET[1]: um 20) und *Pisania maculosa* (TUZET[4]: $N = 9$ und $N = 8$ für X- und O-Spermien) sind ebenfalls irrtümlich, wie aus diploiden Furchungsmetaphasen hervorgeht. – Zur Frage der Geschlechtsbestimmung bei Prosobranchiern ergibt die Oogenese keine sichere Information. Geschlechtschromosomen sind bei mehreren Stenoglossenarten in der Spermatogenese verzeichnet worden (u.a. *Murex trunculus, Columbella rustica, Pisania maculosa*); sie er-

[1] O. TUZET, Arch. Zool. exp. gén. *70*, 95 (1930).
[2] G. CAPUIS, Atti R. Ist. Veneto, Cl. di Sci. mat. e nat., Tomo C I, 1941/42.
[3] V. SCHITZ, Arch. Zool. exp. gén. *56*, Notes et Revue 32 (1916–18).
[4] O. TUZET, Arch. Zool. exp. gén. *67*, Notes et Revue 18 (1927).

scheinen aber zweifelhaft bei den nur unsicher analysierbaren chromosomialen Bedingungen der Spermatogenese.

Von den aufgeführten acht Arten durchlaufen *Ocinebra erinaceus* und *Euthria cornea* eine normale

Abb. 4. *Pisania maculosa*, frühe erste Metaphase der Oogenese. 1100 ×.

Embryonalentwicklung; die Eier der übrigen sechs Arten sind mehrheitlich (bis 99%) entwicklungsunfähig und dienen den wenigen Veligerlarven derselben Laichkapsel als Nähreier. Die Tabelle zeigt, daß zwischen Chromosomenzahl und dem arttypisch auftretenden Nähreierphänomen keine korrelative Beziehung besteht.

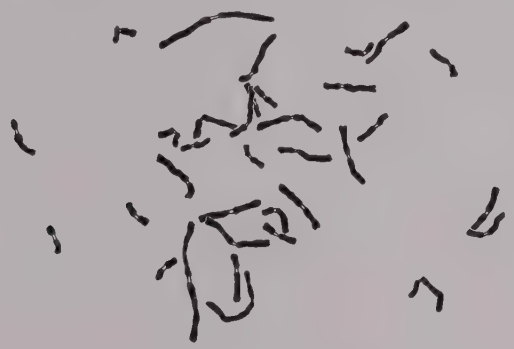


Abb. 5. *Columbella rustica*, haploider Eisatz. 1200 ×.

In den bisher ermittelten Haploidwerten tritt eine weitgehende Gleichförmigkeit zutage; Zahlen um 35 sind für Arten verschiedenster Familien verbindlich. Die Ausnahmestellung der Muricidenart *Purpura lapillus* muß deshalb um so mehr auffallen.

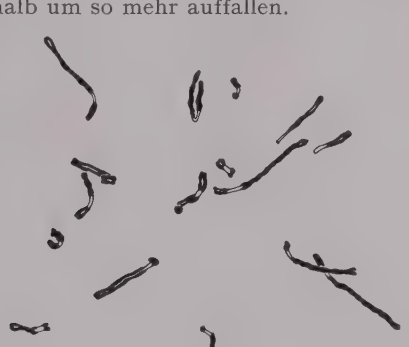


Abb. 6. *Purpura lapillus*, haploider Eisatz. 1200 ×.

Der Vergleich der Haploidsätze von *Purpura* mit jenen der übrigen sieben Arten zeigt ferner einen markanten Unterschied der Zentromerenlage, der sich qualitativ charakterisieren läßt[1]. Die Arten mit hohe Chromosomenzahl besitzen keine akrozentrischen Ele mente. Im *Columbella*-Satz überwiegen die metazentri schen; in Chromosomen mit submedianer Insertio überschreitet das Armlängenverhältnis in keinem Fal den Wert 4:1. Analoges ergibt sich für *Euthria* aus de Tatsache, daß die Mehrzahl der Chromosomenpaare i der ersten Metaphase Ringbivalente bildet, wie auc aus den Bivalentformen von *Murex* und *Ocinebra*. Dem gegenüber zeigt der Haploidsatz von *Purpura lapillu* ein Überwiegen der submetazentrischen bis akrozen trischen Chromosomen. Drei individualisierbare Ele mente mit extrem subterminaler Zentromerenlage be sitzen einen äußerst kleinen zweiten Arm. – Einer höher Chromosomenzahl entspricht zugleich eine mehr al proportional höhere Zahl von Chromosomenarmen. Ei Evolutionszusammenhang zwischen den entsprechende Arten ist somit nicht im Sinne der ROBERTSONsche Regel deutbar.

Der Eidgenössischen Kommission für die zoologischen Stationen in Neapel und Roscoff danke ich für die Überlassung der Schweizer Freiplätze an den beiden Orten.

H. STAIGER

Zoologische Anstalt der Universität Basel, den 28. Oktober 1949.

Summary

Haploid chromosome numbers of eight species o stenoglossan prosobranchs from Naples and Roscof (Bretagne) are reported and some erroneous statement of chromosome numbers in papers on prosobranc spermatogenesis are clarified. Attention is directed t the exceptional chromosome number and centromere positions in *Purpura lapillus*.

[1] Von der Angabe einer Fundamentalzahl im Sinne MATTHEY wird hier abgesehen, da besonders bei *Purpura* die intermediär Zentromerenlage keine zwingende Zahlbestimmung der Chromo somenarme zuläßt.

Quelques observations sur le mode d'action d l'organisateur chez les Amphibiens

Au cours d'une discussion sur les mécanismes bio chimiques de l'induction organisatrice[1], nous avions re tenu deux hypothèses comme particulièrement plau sibles: ou bien, l'acide ribonucléique de l'organisateu serait hydrolysé en mononucléotides au cours de l'in vagination et ces nucléotides, aisément diffusibles, pas seraient dans les cellules épiblastiques où ils serviraien à la synthèse d'acide ribonucléique; ou bien, cet acid ribonucléique serait lié à des granules qui envahiraien les cellules sus-jacentes, en se multipliant à la manièr d'un virus. Cette seconde hypothèse a l'avantage d rendre compte du caractère «contagieux» de l'induction sur lequel DALCQ[2] a attiré l'attention.

Afin d'éprouver la valeur de ces hypothèses, diverse expériences (interposition d'une membrane de cello phane, colorations vitales) et des examens cytologique et cytochimiques soigneux ont été entrepris: voici u bref résumé des principaux résultats obtenus.

1° Des fragments d'épiblaste et d'organisateur, pré levés au stade jeune gastrula, ont été accolés par leu face interne en intercalant entre eux une membrane d cellophane, puis cultivés dans du liquide de Holtfrete

[1] J. BRACHET, *Embryologie chimique* (Desoer, Liège 1945).

[2] A. DALCQ, *L'œuf et son dynamisme organisateur* (Albin Miche Paris 1941).

pendant 3 à 5 jours. La cellophane utilisée laissait diffuser rapidement les mononucléotides (acides adénylique et guanylique), lentement l'acide ribonucléique de la levure (poids moléculaire d'environ 10 000); elle arrêtait complètement l'acide thymonucléique polymérisé (poids moléculaire entre 500 000 et 1 000 000). Des expériences de contrôle ont montré que l'introduction d'une lamelle de cellophane dans une vésicule ectodermique ne provoque pas la neuralisation des explantats.

Dans 31 expériences sur un total de 45, la lamelle de cellophane a été bien tolérée et elle a été retrouvée, lors de l'examen microscopique, exactement entre l'organisateur et l'épiblaste. Alors que l'ectoderme présentait de volumineuses inductions neurales dans les régions où il n'était pas protégé par la membrane de cellophane, les portions en regard de cette membrane ne montraient qu'un épithélium cubique, faiblement basophile et d'apparence normale. En aucun cas, cette portion de l'ectoderme n'a présenté de différenciation neurale; souvent, on voit s'arrêter à l'emporte-pièce une masse neurale au point où l'ectoderme fait face à la membrane. Il faut en conclure que l'interposition de la lamelle de cellophane arrête complètement l'influx organisateur et que l'induction ne peut être due à la diffusion de substances à faible poids moléculaire, telles que les mononucléotides. Rappelons, dans le même ordre d'idées, que HOLTFRETER[1] a montré qu'un organisateur tué perd son activité lorsqu'on l'enveloppe d'une membrane vitelline.

2° Des fragments de gastrula d'Axolotl (organisateur ou épiblaste) ont été colorés vitalement au rouge neutre (1:10 000 dans le Holtfreter) pendant une heure et lavés; ces explantats ont été ensuite accolés, par leurs faces internes, à des fragments non colorés. Dans certains cas, des organisateurs colorés au rouge neutre ont été implantés dans le blastocèle de gastrulas normales. On constate qu'il se produit une diffusion rapide du colorant, allant du fragment coloré vers les cellules avoisinantes, à condition que les explantats ou greffons adhèrent fortement à ces cellules. Cette diffusion se produit indifféremment en allant de l'organisateur vers l'épiblaste ou vice-versa et il est donc douteux qu'il s'agisse là d'un phénomène directement lié à l'induction. Il est toutefois intéressant de noter que l'interposition d'une membrane de cellophane arrête le passage du colorant vers les cellules protégées par la membrane. Il est à remarquer aussi que des expériences de centrifugation fractionnée, effectuées sur des gastrulas colorées vitalement au rouge neutre et broyées ensuite, ont montré que ce colorant se fixe exclusivement sur les éléments figurés de la cellule; vitellus, pigment (comme l'avait déjà vu VOGT[2]) et granules ribonucléoprotéiques ultracentrifugeables.

3° Un examen soigneux de la localisation de l'acide ribonucléique pendant la gastrulation et le début de la neurulation a été effectué tant dans le cas d'embryons entiers que du toit de l'archentéron isolé (Axolotl, Pleurodèle, *Triton cristatus*). Il a permis d'observer la présence constante, au niveau de l'interstice séparant le neuroblaste du chordoblaste, de fins prolongements riches en acide ribonucléique. Ce dernier se fixe sur des grains basophiles (chromidies) réunis par un réseau fibrillaire. Les prolongements émis par les cellules neuroblastiques et chordoblastiques tendent à aller à la rencontre les uns des autres et à adhérer fortement. Les images cytologiques observées suggèrent la possibilité que les prolongements hyalins basophiles émis par les cellules de l'organisateur se fusionnent avec ceux des cellules épiblastiques; mais il est clair qu'une grande prudence est nécessaire dans l'interprétation de telles images, en raison du risque d'artefacts. Quoiqu'il en soit, il ne fait pas de doute qu'il se produit une accumulation localisée d'acide ribonucléique au point et au moment précis où les processus d'induction se déroulent. Il est à remarquer en outre que les cellules de l'organisateur, à ce moment, présentent une localisation de l'acide ribonucléique qui rappelle, de manière discrète, celle que nous avons observée[1] dans le cas des cellules épiblastiques en précytolyse: or on sait, par les recherches de HOLTFRETER[2], que la précytolyse réversible conduit très fréquemment à la neuralisation des explantats épiblastiques.

En conclusion, ces expériences confirment la notion qu'une adhérence intime entre l'organisateur et l'épiblaste est indispensable au succès de l'induction; c'est au niveau d'une région riche en acide ribonucléique que les cellules adhèrent fortement les unes aux autres. Le passage de substances liées à de grosses particules est possible de l'organisateur vers l'épiblaste et il semble douteux que l'induction neurale soit due à la diffusion de substances à faible poids moléculaire.

J. BRACHET

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université de Bruxelles, le 20 octobre 1949.

Summary

(1) A cellophane membrane placed between the organizer and the epiblast prevents neural induction. (2) Neutral red, by which yolk, pigment and microsomes are vitally stained, can diffuse from the cells of the organizer to those of the epiblast, and vice-versa. (3) At the moment of neural induction ribonucleic acid accumulates at the site of hyaline processes in the slit between the chordoblast and neuroblast.

[1] J. BRACHET, C. R. Soc. Biol. *140*, 1123 (1946).
[2] J. HOLTFRETER, J. Exper. Zool. *106*, 197 (1947).

[1] J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. *128*, 584 (1933).
[2] W. VOGT, Arch. Entw. Mech. *106* (1925).

The Water Taste of the Frog

In 1935[1] I was the first to record action potentials from the taste fibres of the cat and I will only recollect that the cat was found to have no specific fibres responding to sweet tasting solutions. This is in accordance with the well-known fact that cats do not like sugar in contrast to the dog.

Last winter we have isolated in this laboratory single taste fibres in the dog's tongue which responded specifically to such sweat-tasting substances as sucrose, glycol and lead-acetate just as is the case in man but with one exception: we did not obtain any definite response to saccharine.

Owing to the shortage of dogs for experimental purposes I happened to investigate the matter in the frog and was surprised to find that a 6 % sucrose solution applied upon the tongue elicited a massive volley of large spikes from the glossopharyngeal nerve. PUMPHREY[2] was unable to find response from the frog's ninth nerve other than to salt and acid solutions. But I was further astounded when I found that ordinary tapwater or distilled water produced the same effect. Further experiments convinced us that the frog's tongue

[1] Y. ZOTTERMAN, Skand. Arch. Physiol. *72*, 73 (1935).
[2] R. J. PUMPHREY, J. Cell. Comp. Physiol. *17*, 243 (1935).

possesses nerve fibres, the endings of which respond specifically to water.

When a few ml of water are poured on the tongue there is a rapid response which takes about five minutes to subside. The response can be dramatically abolished by washing the tongue with Ringer's solution or by isotonic KCl solution. The latter solution exerts on inhibitory action on these endings. These results have been published in Acta physiol. Scand., 1949[1].

Recently B. ANDERSSON and I have succeeded in isolating single fibres responding specifically (1) to water, (2) to touch, (3) to acids. Acid solutions excite endings belonging to thinner fibres.

Using different strength of hypotonic NaCl solutions we found that the threshold for the water taste fibres was equal to or less than 0·05%.

In my paper of 1949 I suggested that the water taste fibres might subserve an important physiological mechanism in the frog. It is likely that these fibres contribute to a reflex closure of the frog's mouth when the animal is immersed in fresh water thereby preventing unnecessary intake of water and thus avoiding aspiration of water.

The amphibians living in fresh water have to regulate their water intake carefully in order to maintain an adequate mineral balance.

A further account (B. ANDERSSON and Y. ZOTTERMAN) of these phenomena will appear early next year in Acta physiol. Scand.

YNGVE ZOTTERMAN

Department of Physiology, Kungl. Veterinärhögskolan Stockholm, December 1, 1949.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die Zunge der Amphibien besondere Endorgane besitzt. die spezifisch auf reines Wasser oder verdünnte NaCl-Lösungen von einer Konzentration unter 0,05% reagieren. Diese Rezeptoren sind mit ziemlich groben Nervenfasern im N. glossopharyngeus verbunden. Die Entladungen dieser Fasern können sehr leicht von denen unterschieden werden, die durch Säuren oder Schmerz entstehen. Diese Reize werden durch Fasern von kleinerem Durchmesser übertragen.

Isolierte Fasern, die auf hypertonische NaCl-Lösungen ansprechen, reagieren nicht auf reines Wasser. Es wird vermutet, daß dieser Wassergeschmack im Dienst des Elektrolythaushaltes des Frosches steht.

[1] Y. ZOTTERMAN, Acta physiol. Scand. *18*, 181 (1949).

A New Crystallographic Modification of Chitin and its Distribution

X-ray photographs of the notopodial chætæ of the polychæte *Aphrodite aculeata* taken in 1938 revealed a chitin (polyacetylglucosamine) picture almost as well developed as that obtained by MEYER and PANKOW[1] from an apodeme of *Palinurus vulgaris*. The chætæ are non-cellular bristles, *c.* 15 × 0·25 mm, secreted in pits in the epidermis; they are dark brown to black in colour and of considerable stiffness. Extraction with hot 10% potash, or with diaphanol, results in a loss in weight of about 65% and leaves the bristles as glass-clear rods, flexible when wet, showing brilliant interference colours. The X-ray photographs from untreated bristles include meridional reflections that do not belong to the picture of *Palinurus* and that disappear on treatment with dilut potash or diaphanol[1]. This note is concerned only wit potash- or diaphanol-extracted material. Photograph were taken with a fine collimator (0·25 × 60 mm) exposing for 72 hours and more. Whereas other worker have reported identity between the X-ray photograp of *Aphrodite* bristles and that of crustacean chitin[2], ou photographs showed considerable differences. The fibre axis was found to be 10·17 Å, and the two stronges reflections on the equator yielded d-values of 9·32 Å and 22·15 Å, as compared with *Palinurus*: a = 9·40 Å b = 10·46 Å; c = 19·25 Å. Our photographs of *Palinuru* gave b = 10·27 Å (determined from the 020 reflection) at variance with MEYER and PANKOW's interpolate value of 10·46 Å. The 020 reflection in their photograp gives b = 10·26 Å, however. Our photographs also indicate a displacement of the meridional reflection on th third layer line from a position corresponding to a d value of 3·41 Å to one of 3·26 Å; moreover the intensit ratio of the meridional reflections on the second an third layer lines is reversed in the *Aphrodite* photograp as compared with *Palinurus*. It is proposed to refer t the new modification as β-chitin in contrast to th α-chitin of *Palinurus*.

MEYER and PANKOW's model of *Palinurus*-chiti envisaged an orthorhombic unit cell. If there were chitobiose residues in β as in α (the unit cell remainin orthorhombic), a 15% increase in the c-axis (nearly 3 Å would mean a change in density from 1·415[3] to 1·2 (calculated). Determinations of the density of treate bristles in mixtures of tetrachloro-ethane and butyli alcohol showed, however, that this is only slightly les than that of *Palinurus*. In the same media, fragment of *Limulus* carapace extracted with dilute KOH an known to give an α-chitin picture (see below) exhibite a density between 1·40 and 1·42. The bristles showe some scatter (observed by SOLLAS[4] in other chiti samples), but the bulk of the population behaved as i the density lay between 1·40 and 1·41. These observation suggest that the β-form cannot be derived from simply by dilatation of the c-axis.

That α and β are closely related is suggested by th apparent conversion of β to α on treatment with 45% fuming nitric acid. Preliminary experiments showe that extracted bristles swelled markedly, shortened t about one third of their initial length, and dissolve completely after 15 minutes in 45% fuming nitric acid— as does *Palinurus* chitin[5]. Untreated bristles in 45% fuming nitric acid undergo little dimensional change i 15 minutes, however; at the end of this period they ar translucent, though still brown in colour. After washin and drying, they yield an α-photograph; the orientatio is not so good as in the untreated bristle. Further wor is necessary before this transformation is accepted a proven, but the observation suggests that α and β ar indeed closely related.

X-ray photographs of well-oriented chitinous materia from the main-groups of the Arthropoda have shown i each case that the polysaccharide present is the α modification. In addition to fibres from the apodeme of *Palinurus* (Crustacea) and the trabeculæ runnin between upper and lower surfaces of the carapace o *Limulus* (Arachnida), apodemes of the wing-muscles o *Æschna* and the inner blades of the ovipositor of *Sire*

[1] K. H. MEYER and G. W. PANKOW, Helv. chim. acta *18*, 589 (1935).

[1] L. E. R. PICKEN and W. LOTMAR, in press (1949).
[2] G. BOBIN and H. MAZOUÉ, Bull. Soc. zool. Fr. *69*, 125 (1946).
[3] K. H. MEYER and G. W. PANKOW, l. c.
[4] I. J. B. SOLLAS, Proc. Roy. Soc. B *79*, 474 (1907).
[5] K. H. MEYER and H. WEHRLI, Helv. chim. acta *20*, 353 (1937)

gigas (Insecta) have been examined, both untreated and after extraction.

The cuticle of *Peripatus* (Onychophora) gave a powder-diagram with rings of remarkable sharpness. It appears to be α-chitin. With respect to 031, 002 is in precisely the position it occupies in the α-form, and there is present a reflection that occurs on the equator of α but is absent in β. Powder-photographs of β-chitin for comparison with this photograph have not as yet been taken.

Among the various chitinous structures present in the Mollusca, only the pen of *Loligo* has as yet been examined. Well-oriented samples from the rachis of the pen gave unmistakable β-photographs, though MEYER and WIEBENGA[1] had previously reported identity of the diagram given by the pen with that of *Palinurus*, save for poorer orientation.

While the crystallographic study of the various forms of chitin in the Animal Kingdom is of interest for its own sake, it may also prove of interest in relation to affinities between the different phyla—as this preliminary examination suggests. The plant-chitins hitherto examined[2,3] appear to be of the α-type, but Dr. K. M. RUDALL informs us that he has obtained photographs somewhat similar to ours from mushroom-stalk chitin.

W. LOTMAR and L. E. R. PICKEN

Aarau, Switzerland, and Zoological Laboratory, Cambridge, England, December 1, 1949.

Zusammenfassung

Die chitinösen Borsten des marinen Wurms *Aphrodite aculeata* ergeben nach Reinigung mit KOH ein Röntgenfaserdiagramm, welches sich von dem an *Palinurus*sehne erhaltenen unterscheidet. Der innerste Äquatorreflex entspricht einem Netzebenenabstand von 22,15 Å gegen 19·25 Å bei *Palinurus*, der Meridianreflex auf der 3. Schichtlinie hat d = 3,26 Å gegen 3,41 Å, und das Intensitätsverhältnis der Meridianreflexe der 2. und 3. Schichtlinie ist gegenüber *Palinurus* umgekehrt. Für die neue Modifikation wird die Bezeichnung β-Chitin vorgeschlagen (gegen α-Chitin bei *Palinurus*). Die Dichte der beiden Modifikationen ist nahezu dieselbe. Vertreter der Hauptgruppen der Arthropoden zeigen sämtlich α-Chitin, ebenso *Peripatus*. β-Chitin wurde noch bei der inneren Schale von *Loligo* gefunden.

[1] K. H. MEYER and E. H. WIEBENGA, see K. H. MEYER, *Natural and Synthetic High Polymers* (New York, 1946).
[2] G. VAN ITERSON, Jr., K. H. MEYER, and W. LOTMAR, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *55*, 61 (1936).
[3] A. N. J. HEYN, Protoplasm *25*, 372 (1936).

Über das Vorkommen von Desoxyribonuclease und Kathepsin in Zellkernen aus Nieren

Seit einiger Zeit beschäftigen wir uns mit der Darstellung von in biochemischer Hinsicht möglichst unveränderten Zellkernen, um Stoffwechselprobleme an ihnen zu studieren. Über das von uns entwickelte neuartige Darstellungsverfahren für Zellkerne wird in Kürze in der Biochemischen Zeitschrift ausführlich berichtet werden.

Bei den Untersuchungen über die Depolymerase der Desoxyribonucleotide haben wir Schweine- und Kalbsnieren benutzt, aus denen sich die Kerne leicht besonders rein gewinnen lassen. Als Substrat dient hochpolymere Thymonucleinsäure nach HAMMARSTEN[1]. Die Messung der Fermentaktivität erfolgt in Ostwald-Viskosimetern bei optimalem p_H (Acetatpuffer). Unsere Versuche haben gezeigt, daß das Ferment ganz überwiegend in den Zellkernen vorkommt.

Tabelle I

Abnahme der relativen Viskosität während 45 Minuten, berechnet je mg N der untersuchten Fraktionen.

K_1	0,83
K_2	1,2
$\dot{U}_2$	0,13

K_1 bei 600 g sedimentierbare Kerne
K_2 bei 2000 g sedimentierbare Kerne
$\dot{U}_2$ überstehende Flüssigkeit von K_2, kernfrei

Das Ergebnis ist davon abhängig, daß die gesamte Darstellung der Kerne unter Bedingungen erfolgt, die nach unseren Erfahrungen eine irgendwie geartete Extraktion von Kernmaterial ausschließen, und die eine Zertrümmerung einzelner Kerne verhindern. Die in den anderen Zellfraktionen als den Kernen zu findenden geringen Fermentaktivitäten schwanken und scheinen in ihrer Größe von den eben genannten Bedingungen abhängig.

Die Untersuchung der katheptischen Aktivität haben wir an Zellkernen aus Schweinenieren durchgeführt. Der Ansatz folgt dem Vorgehen von ANSON[2] unter Bestimmung von Tyrosin und Tryptophan mit dem Phenolreagens von FOLIN und CIOCALTEU[3]. Die Zellkerne zeigen hierbei eine sehr erhebliche Aktivität, während die kernfreie überstehende Flüssigkeit ebenfalls hochaktiv ist. Versuche zur näheren Klassifizierung des Kathepsin sind im Gange.

Tabelle II

Zuwachs an Tyrosin und Tryptophan nach 90 Minuten in γ, berechnet je mg N der untersuchten Fraktionen

K_1	24
K_2	26
$\dot{U}_1$	18
$\dot{U}_2$	17

K_1 bei 600 g sedimentierbare Kerne
$\dot{U}_1$ überstehende Flüssigkeit von K_1
K_2 bei 2000 g sedimentierbare Kerne
$\dot{U}_2$ überstehende Flüssigkeit von K_2, kernfrei

Da nach MAVER und GRECO[4] Kathepsin Nucleoproteide in Nucleotide und Histon zu spalten vermag, möchten wir dem von uns erstmals aufgefundenen Vorkommen von Kathepsin in Zellkernen eine erhebliche funktionelle Bedeutung beimessen. (Die Frage der Nucleotid-Eiweißbindung wird von uns z. Z. auch in anderer Hinsicht geprüft.) Aus den Versuchen mit Desoxyribonuclease glauben wir schließen zu können, daß der Zellkern hinsichtlich der Depolymerisierung seiner Desoxyribonucleotide durchaus unabhängig vom Zytoplasma ist. – Weitere Untersuchungen, die der Klärung der Frage nach der Stellung des Zellkerns im Stoff-

[1] E. HAMMARSTEN, Biochem. Z. *144*, 383 (1924).
[2] M. L. ANSON, J. gen. Physiol. *20*, 565 (1936); *22*, 79 (1939).
[3] O. FOLIN und V. CIOCALTEU, J. biol. Chem. *73*, 627 (1927).
[4] M. E. MAVER und A. GRECO, Fed. Proc. *7*, 171 (1948).

wechsel dienen sollen – ob selbständig, teilweise, oder ganz abhängig –, werden zur Zeit durchgeführt.

Herrn H. LANG danken wir für die Hilfe bei der Darstellung der Zellkerne.

K. LANG, G. SIEBERT, I. BALDUS und A. CORBET

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den 23. November 1949.

Summary

The authors prepare cell nuclei by a newly developed procedure. Isolated cell nuclei from hog and calf kidney contain almost the whole activity of desoxyribonuclease (depolymerase) of these tissues. – The catheptic activity of isolated cell nuclei from hog kidney is a very considerable one. The importance of these findings is briefly discussed.

Vitesse de renouvellement et localisation de l'acide ribonucléique

L'un de nous a signalé récemment que la vitesse avec laquelle des groupes phosphate marqués par le P^{32} s'intègrent dans les molécules d'acide ribonucléique (RNA) cytoplasmique d'embryons de souris, était fort différente suivant la fraction nucléoprotéique considérée[1]. La valeur de données de ce genre dépend presque exclusivement du soin apporté dans l'isolement des ribonucléotides du RNA[2]. Depuis la publication de nos premiers résultats nous avons amélioré notre technique en soumettant les ribonucléotides, incomplètement purifiés par la technique de SPIEGELMAN et coll.[3], à une séparation chromatographique sur papier, le solvant employé étant du phénol saturé d'eau. Grâce à cette manipulation supplémentaire nous arrivons, notamment, à séparer les ribonucléotides de toute trace de Pinorganique à haute radioactivité spécifique (orthophosphate, métaphosphate ou pyrophosphate). La principale cause susceptible de fausser nos résultats se trouve ainsi éliminée aisément. C'est de cette manière qu'à été entreprise l'étude des relations existant entre la vitesse de renouvellement des groupes phosphate de l'acide ribonucléique du foie de rat adulte et la localisation intracellulaire de ce corps.

Deux heures après injection sous-cutanée de phosphate marqué par le P^{32}, les noyaux d'une partie du foie sont isolés par la méthode de STONEBURG[4]. Le reste de l'organe est homogénéisé mécaniquement dans du tampon phosphate de p_H 7,3. Les noyaux présents dans la suspension sont éliminés par une centrifugation brève à basse vitesse (2000 à 3000 r par min.). L'extrait cytoplasmique est fractionné au cours d'une série de centrifugations de vitesses croissantes, les culots de particules successivement obtenus et le liquide surnageant final étant recueillis séparément.

Le RNA des noyaux présente une radioactivité spécifique (coups p. min. et par unité de poids de P) 5 fois plus élevée que le RNA cytoplasmique resté en solution après une centrifugation de 60 min. à $6{,}10^4$ g. Quant au RNA des particules cytoplasmiques se sédimentant aisément, sa radioactivité spécifique décroît en même temps qu'augmente la vitesse de sédimentation des particules, et cela dans des proportions telles que la fraction cytoplasmique la moins radioactive présente une radioactivité spécifique égale au $^1/_{35e}$ de celle du RNA nucléaire.

[1] R. JEENER, Nature *163*, 837 (1949).
[2] R. JEENER, Bull. Soc. Chim. Biol., sous presse.
[3] E. JUNI, M. KAMEN, M. REINER et S. SPIEGELMAN, Arch. Biochem. *18*, 387 (1948).
[4] C. STONEBURG, J. Biol. Chem. *129*, 189 (1939).

L'utilisation de la méthode chromatographique de sé paration des ribonucléotides du RNA confirme ains sur un nouveau matériel d'étude, nos conclusions anté rieures: les radioactivités spécifiques des diverses frac tions du RNA cytoplasmique isolées à partir d'extrait de tissus étant différentes, nous sommes obligés d'ad mettre que ces fractions existaient déjà dans la cellul normale; le RNA des particules trouvées dans le extraits ne peut donc s'être fixé sur elles lors de l dispersion du cytoplasme, par suite de modifications d p_H ou de force ionique survenues à ce moment[1].

Le fait que le RNA des noyaux présente une radio activité spécifique supérieure à celle du RNA cyto plasmique est en accord avec les résultats de BARNUM HUSEBY[2] et MARSHAK[3] récemment publiés.

Ignorant presque tout des réactions auxquelles participe le RN au sein de la cellule il nous est évidemment difficile d'interpréter le faits décrits. Signalons toutefois que la décroissance de la radio activité spécifique du RNA des diverses fractions dans l'ordr indiqué ci-dessus s'expliquerait fort bien si nous admettions que l RNA est synthétisé dans le noyau et passe ensuite dans le cyto plasme, où il apparaît initialement sous la forme d'un ribonucléo protéide de petites dimensions, servant lui-même de point de dépar à l'édification de particules plus grosses et plus complexes suivan l'hypothèse de BRACHET et CHANTRENNE[4]. Pareille interprétatio n'a évidemment de valeur que si le P^{32} trouvé dans le RNA s'y es introduit, au moins pour la plus grande partie, au cours de la syn thèse de molécules nouvelles, et non par le simple jeux de chaînes d réactions réversibles[5].

La méthode chromatographique de purification de nucléotides a été également appliquée à la comparaiso des radioactivités spécifiques de diverses fractions d RNA des cellules d'un flagellé, *Polytomella coeca*[6], e croissance active. Ces cellules ont été traitées comm nous l'avons indiqué ci-dessus pour le tissu hépatique d rat, deux heures après adjonction au milieu de cultur de phosphate marqué par du P^{32}. La répartition de l radioactivité spécifique dans les diverses fractions d RNA de *Polytomella* est semblable à celle réalisée dan le cas du foie de rat adulte, à cette différence près qu les particules à grande vitesse de sédimentation pré sentent une radioactivité spécifique plus élevée que le particules à vitesse de sédimentation moyenne. Nou pourrions nous demander si cette particularité n'es pas caractéristique des cellules en multiplication activ car nous l'avons signalée antérieurement chez le embryons de souris.

Tenter de donner une interprétation de la différence qui existerai ainsi entre cellules au repos et cellules en multiplication paraît im possible avant que de nombreuses données complémentaires n'aien été recueillies sur le comportement des acides nucléiques au cours d la division.

R. JEENER et D. SZAFAR

Laboratoire de physiologie animale, Université d Bruxelles, le 9 octobre 1949.

Summary

The turnover rate of the phosphate groups of ribo nucleic acid varies a great deal with its localization insid the cell. Differences seem to exist between resting an dividing cells.

An interpretation of the part of these facts has bee proposed.

[1] A. KLECZOWSKI, Biochem. J. *40*, 677 (1946).
[2] M. LAUFFER, J. Biol. Chem. *174*, 481 (1948). – G. BARNUM e R. HUSEBY, Fed. Proc. *8*, 183 (1949).
[3] A. MARSHAK, J. Cell. Comp. Physiol. *32*, 381 (1948).
[4] J. BRACHET et H. CHANTRENNE, Acta biol. Belg. *2*, 451 (1942). H. CHANTRENNE, Biochem. et biophys. acta *1*, 437 (1947).
[5] H. CHANTRENNE, travail non publié.
[6] Nous devons une souche de ce flagellate et toutes les indicatio nécessaires pour la réussite de sa culture à M. A. LWOFF, que nous re mercions de sa grande amabilité.

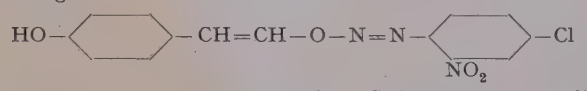
Eine neue Reaktion zum Nachweis und zur Bestimmung der *p*-Oxyphenylbrenztraubensäure im Harn

Die *p*-Oxyphenylbrenztraubensäure (*p*-Opbs) entteht intermediär beim oxydativen Abbau des («nicht atürlichen») *d*-Tyrosins[1] und wird bei bestimmten Stöungen des Stoffwechsels im Harn ausgeschieden[2]. Da e nur von der Leber abgebaut wird, eignet sie sich als estsubstanz für deren Funktionsprüfung und hat sich ereits in zahlreichen klinischen Versuchen bewährt[3]. abei wird der Patient mit 2 g *p*-Opbs belastet und gerüft, wieviel er davon wieder ausscheidet; werden mehr ls 8–10% wiedergefunden, so ist die Leber geschädigt[4]. isher wurde die Ketosäure im Harn entweder mit der illonschen Reaktion oder als Hydrazon bestimmt. eide Verfahren erfassen aber auch andere Bestandteile es Harns. Wir suchten deswegen die Diazoreaktion der -Opbs zu einer spezifischen Probe auszubauen.

Nach zahlreichen Vorversuchen mit verschiedenen iazoniumsalzen erwies sich dasjenige des 4-Chlor-2-itroanilins als am geeignetsten. Es ist als Chlorzinkoppelsalz unter dem Namen Echtrotsalz 3 GL im andel. Mit diesem kuppelt die *p*-Opbs bei saurer eaktion (p_H 3–6) zu einem intensiv rot gefärbten arbstoff, der in Prismen kristallisiert und sich bei 27–228° zersetzt. Andere Oxyphenylderivate, wie yrosin, *p*-Oxyphenylmilchsäure und *p*-Oxyphenylropionsäure reagieren unter den gleichen Bedingungen icht. Das Kupplungsprodukt der *p*-Opbs gibt im Geensatz zur freien Säure kein Hydrazon, löst sich nicht in Soda und entfärbt Kaliumpermanganat. Wir vermuten daher, daß die *p*-Opbs nicht am Ring, sondern an der Seitenkette gekuppelt wird, die Carbonylgruppe nicht mehr frei und die Carboxylgruppe abgespalten ist; ferner, daß zwischen den beiden verbliebenen C-Atomen der Seitenkette eine Doppelbindung aufgetreten ist. Freie Kohlensäure ließ sich allerdings nicht nachweisen; wahrscheinlich wird sie von den in der Echtrotsalzlösung enthaltenen freien Zinkionen gebunden. Weiter wurde mittels Tüpfeltitration gegen H-Säure (1-Amino-8-naphthol-3, 6-disulfonsäure) gefunden, daß die *p*-Opbs nur mit einem Mol des Diazoniumsalzes reagiert. Die Elementaranalyse ergab:

Für $C_8H_7O_2 \cdot C_6H_3N_3O_2Cl$ (319,57) gefunden: C 52,23, H 3,60, N 13,96, Cl 12,44; berechnet: C 52,57, H 3,15, N 13,15, Cl 11,07.

Die vorliegenden Befunde lassen sich vorläufig durch folgende Formel für den roten Diazofarbstoff der *p*-Opbs wiedergeben:



Im Harn treten noch andere Substanzen auf, die ebenfalls mit Echtrotsalz 3 GL gefärbte Diazoverbindungen geben. Sie können jedoch an einer Säule von Aluminiumoxyd (standardisiert nach Brockmann) chromatographisch abgetrennt werden. Wir haben frischem Harn von gesunden Personen *p*-Opbs zugesetzt, die Mischung bei 0° mit Echtrotsalz 3 GL gekuppelt und darauf die Farbstoffe mit peroxydfreiem Äther extrahiert.

Läßt man die ätherische Farbstofflösung durch eine Aluminiumoxydsäule laufen, dann entwickeln sich bis zu 7 verschieden gefärbte Zonen, wobei der rote Farbstoff der *p*-Opbs am oberen Rand der 6. Zone (*6a*) haftet (Abb. 1). Um diese Zone abtrennen zu können, benützen wir eine Glasröhre, die in der Mitte durch einen Schliff geteilt ist, und waschen so lange mit Äther nach, bis die

[1] K. Felix und K. Zorn, Z. physiol. Chem. *268*, 257 (1941).
[2] G. Medes, Biochem. J. *26*, 922 (1932). – Vgl. u. a. H. A. Painter nd S. S. Zilva, Biochem. J. *41*, 511 (1947).
[3] K. Felix und R. Teske, Z. physiol. Chem. *267*, 173 (1941). – K. Felix, Z. physiol. Chem. *281*, 36 (1944). – W. Nonnenbruch, tsch. med. Wo. *73*, 40 (1948).
[4] K. Felix, Schweiz. med. Wschr. *78*, 1165 (1948).

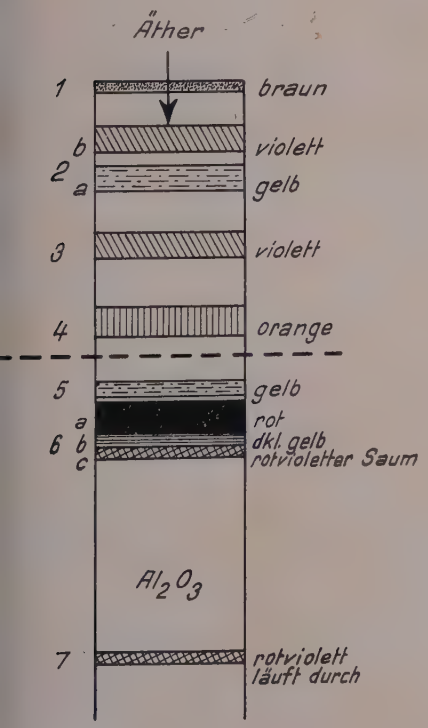


Abb. 1.

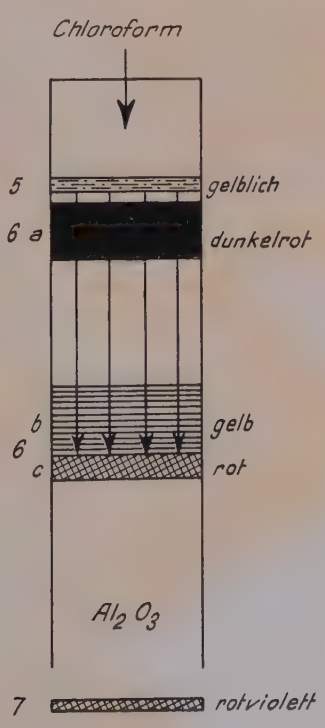


Abb. 2.

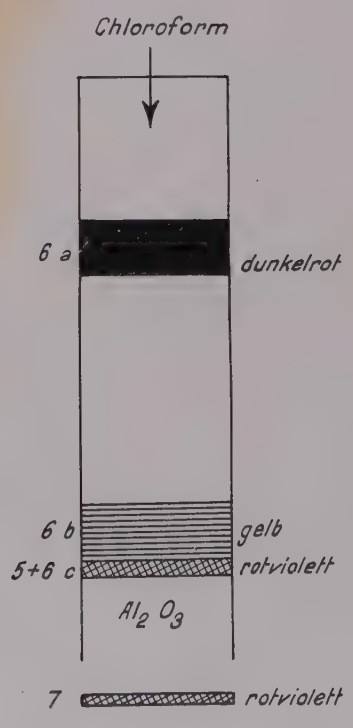


Abb. 3.

Zone 6 vollständig unter dem Schliff sichtbar wird. Dann wird die obere Hälfte der Säule abgenommen und die untere mit Chloroform ausgewaschen. Dabei wandern die Zonen 5 sowie die gelben und roten Anteile der Zone 6 (*6b* und *c*) in die unteren Partien, während die dunkelrote Zone der *p*-Opbs (*6a*) etwa an ihrem Platz verbleibt (Abb. 2 und 3). Man nimmt nun diesen Teil der Säule heraus und eluiert den Farbstoff mit Essigester, dem einige Tropfen Eisessig zugegeben worden sind. Zugesetzter *p*-Opbs-Farbstoff wurde mit diesem Verfahren aus dem Harn ohne Verlust zurückgewonnen. Zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung haben wir eine Eichkurve aufgestellt, indem wir reine *p*-Opbs im Bereich von 0,1–1 mg in der gleichen Weise mit Echtrotsalz 3 GL kuppelten und chromatographierten. Die Kurve verlief geradlinig und ging durch den Nullpunkt.

Wir haben mit diesem Verfahren den Harn mehrerer gesunder Personen und verschiedener leberkranker Patienten analysiert, aber in keinem Fall den dunkelroten Farbring beobachtet, der für den Diazofarbstoff der *p*-Opbs charakteristisch ist. Ebensowenig blieben an dieser Stelle andere Farbstoffe haften. Somit dürfte diese Methode die *p*-Opbs spezifisch nachweisen.

Von welchen Bestandteilen des Harns die Farbstoffe der anderen Zonen herrühren, konnte noch nicht ermittelt werden. Brenztraubensäure, Tryptophan und Ascorbinsäure bilden unter diesen Versuchsbedingungen ebenfalls Farbstoffe, die sich aber bei der Chromatographie nicht als einheitlich erwiesen.

Die *p*-Opbs (Testacid) stellte uns das Chemiewerk Bad Homburg AG., das Echtrotsalz und andere Diazoniumsalze die Naphtholchemie in Offenbach/Main zur Verfügung. Besonders möchten wir Herrn Dr. Huss, dem Leiter der Diazoabteilung der Farbwerke Hoechst für seine zahlreichen Ratschläge danken.

K. FELIX und G. LEONHARDI

Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a. M., den 12. November 1949.

Summary

p-Hydroxyphenylpyruvic acid reacts immediately with diazotized 4-chlor-2-nitroaniline, developing a deep red colour. The reaction is specific and can be used for the quantitative determination of this keto-acid in urine.

Excrétion des 17-cétostéroïdes chez l'homme normal[1]

Dans le but d'étudier l'élimination urinaire des hormones stéroïdes chez des malades atteints de cancer, nous avons déterminé préalablement les valeurs moyennes de l'excrétion des 17-cétostéroïdes (17-CS) chez des individus sains ou non-cancéreux.

Matériel et méthode

Cette étude porte sur 58 personnes (25 hommes et 33 femmes) en bonne santé ou hospitalisés pour diverses maladies n'affectant pas l'excrétion des 17-CS; dans la majorité des cas hospitalisés, il s'agit de malades convalescents[2].

On utilise généralement *400 cm³ du mélange des urines de 24* Après hydrolyse avec 10% de HCl conc. on extrait suivant la m thode décrite par JAYLE[1] pour les œstrogènes. L'extrait éthéré d barrassé des œstrogènes par NaOH (*N*) est lavé par de l'eau distillé puis évaporé sous vide à 0° C. Le résidu sec est repris dans 5 cm d'alcool absolu rectifié suivant la méthode préconisée par CALLO *et al*[2].

Pour la détermination colorimétrique, on emploie la méthode d ZIMMERMANN[3] modifiée de la manière suivante: 0,5 cm³ de solutio alcoolique de 17—CS+1,0 cm³ métadinitrobenzène solution à 1 dans alcool absolu rectifié +1,0 cm³ KOH (5*N*) solution aqueu titrée (conservée en flacons paraffinés). Les tubes sont placés dans u thermostat à 25° et à l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture d résultats est faite aussitôt après au moyen du colorimètre à cellu photoélectrique *Electro-synthèse*. Une seule lecture est faite avec filt bleu-vert; un tube témoin ne contenant pas de 17–CS mais seul ment les réactifs traités de la même manière que les échantillons doser – sert à fixer le zéro de l'appareil.

Une courbe d'étalonnage a été obtenue préalablemen avec des solutions d'androstérone pure, cristallisé (Ciba) de concentration connue. Elle permet de trans former immédiatement les déviations de l'aiguille d galvanomètre en milligrammes d'androstérone. Par con vention, et dans ces conditions strictement standar disées, nos résultats sont exprimés en *milligramme d'androstérone par litre d'urine de 24 h.*

Résultats

Toute appréciation des résultats de dosage des 17-C doit tenir compte de l'âge de l'individu. On sait qu l'excrétion des 17-CS varie avec l'âge (ROBINSON[4]) C'est la raison pour laquelle nous avons recherché le valeurs normales dans les diverses classes d'âge. Il es évident que l'on doit s'attendre aussi à relever des dif férences entre les 2 sexes de même classe d'âge. Nos ré sultats sont résumés dans le tableau I.

Tableau I

	♂			♀		
Classe d'âge	*T*	*n*	*σ*	*T*	*n*	*σ*
20–29	12,1	3	0,17	11,5	8	2,4
30–39	10,9	4	2,2	10,7	7	2,4
40–49	–	–	–	11,6	4	3,3
50–59	9,7	3	1,5	–	–	–
60–69	6,3	7	1,8	7,6	5	2,3
70–79	9,0	4	2,8	8,9	5	3,2

T taux moyen en mg 0/00 (24 h)
n nombre de cas
σ coefficient de dispersion

Il ressort de ces déterminations que le taux moyen de 17-CS diminue avec l'âge des individus. Par ailleurs, c taux n'est pas sensiblement différent dans l'un et l'autr sexe. On remarque de plus que le taux moyen, après avoir atteint entre 60 et 69 ans une valeur qui est enviro 2 fois plus faible qu'entre 20 et 29 ans, tend à remonte ensuite vers des valeurs plus élevées (figure).

[1] Ce travail a été réalisé grâce à une subvention de la Ligue nationale suisse contre le cancer.

[2] Nous tenons à remercier MM. les Prof. DECKER, ROCHAT et ROSSELET et M. le Dr. A. DELACHAUX qui nous ont permis et facilité le rassemblement de ces cas.

[1] M. F. JAYLE, Exp. ann. Bioch. (Masson, Paris 1944) p. 19 Bull. Soc. Chim. biol. *25*, 300 (1943).

[2] R. K. CALLOW, N. M. CALLOW et C. W. EMMENS, Biochem. *32*, 1313 (1938).

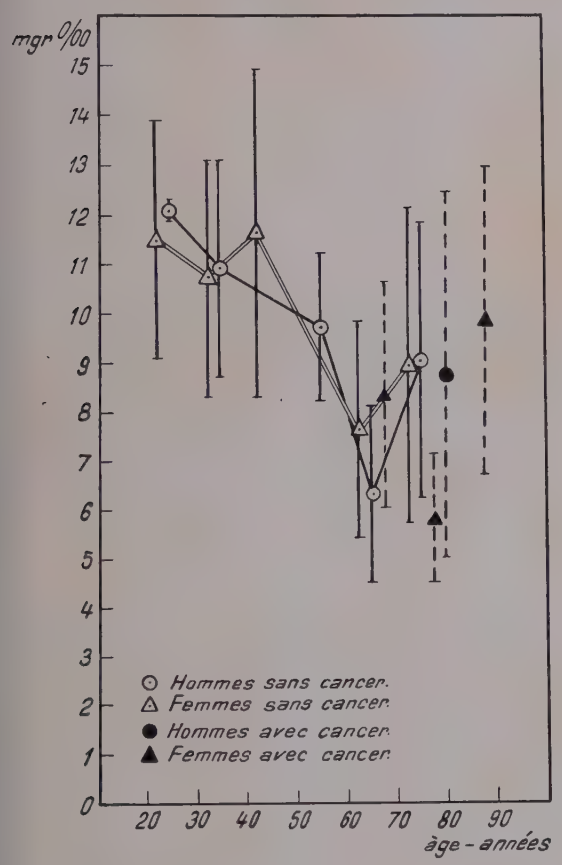
[3] W. ZIMMERMANN, Z. physiol. Ch. *233*, 257 (1935).

[4] A. M. ROBINSON, Brit. J. Cancer *2*, 13 (1948).

C'est dans la même période de la vie que le cancer est lus fréquent. Les résultats du dosage des 17-CS chez es malades cancéreux seront analysés et discutés par . Reymond dans une publication ultérieure.

Discussion

Nos résultats démontrent une fois de plus la variation e l'excrétion urinaire des 17-CS en fonction de l'âge Robinson[1]). Par contre, nous n'avons pas trouvé de ifférence statistiquement significative entre l'excré-on chez l'un et l'autre sexe. Pour Callow *et al.*[2] homme adulte élimine 10–15 mg/jour ou 16–34 mg/jour uivant Holtorff et Koch[3] alors que la femme élimine



–12 mg/jour suivant Callow *et al.* ou 5–22 mg/jour 'après Holtorff et Koch. En utilisant la méthode de es deux derniers auteurs, McHenry *et al.*[4] trouvent hez l'homme entre 20 et 60 ans des valeurs de 10–23 ng/jour. Les limites extrêmes entre lesquelles s'inscrivent es valeurs normales de l'excrétion des 17-CS ne sont pas xactement fixées. Elles dépendent non seulement de âge, mais encore de la méthode employée. De plus, une elation peut être établie entre le volume d'urine émis ar 24 h et la quantité de 17-CS excrétée (McHenry[4]). e coefficient de corrélation partielle entre le volume 'urine et le taux des 17-CS par 24 h pour un âge donné, alculé sur la totalité de nos cas entre 20–50 ans est égal –0,954. Le coefficient de corrélation simple entre le volume d'urine et le taux des 17-CS est égal à –0,894 entre 20 et 50 ans et +0,213 entre 51 et 80 ans. La liaison entre ces deux variables est donc très forte entre 20 et 50 ans et se relâche considérablement chez des individus plus âgés. La valeur négative du coefficient entre 20 et 50 ans indique que plus le volume urinaire par 24 h est grand, plus le taux des 17-CS est petit. Le calcul de la droite de régression entre les deux variables, effectué en prenant $r = 0{,}894$ donne:

$$T_{17\text{-}CS} = 19{,}2 - 0{,}004\ V^*$$

* T taux des 17–CS; V volume urine en cm^3.

Statistiquement, si l'on calcule à l'aide de cette formule la valeur du taux des 17-CS (T) pour diverses valeurs du volume urinaire (V), et que l'on recherche ensuite la valeur de la quantité totale des 17-CS excrétée (Q), on retrouve les chiffres indiqués par les auteurs cités plus haut (tableau II). Il est probable que les différences sexuelles dans l'excrétion des 17-CS mesurée en mg/24 h dépendent aussi en partie tout au moins de la quantité d'urine émise par 24 h.

Tableau II

V	T	Q
cm^3/24 h	mg/$^0/_{00}$	mg/24 h
1000	15,2	15,2
1500	13,2	19,8
2000	11,2	22,4
2500	9,2	23,0
3000	7,2	21,6

Après 50 ans, ces relations ne sont plus valables et l'excrétion normale des 17-CS peut subir des variations, imprévisibles par ces facteurs.

Conclusions

L'excrétion urinaire des 17-CS dinimue avec l'âge des individus. Exprimée en mg/$^0/_{00}$ d'urine de 24 h, on démontre qu'elle est liée au volume d'urine émis pendant le même temps mais seulement entre 20 et 50 ans. Passés 50 ans, l'excrétion des 17-CS n'obéit plus strictement aux mêmes lois. On ne relève aucune différence significative entre le taux des 17-CS excrétés par la femme comparativement à l'homme.

S. Neukomm et A. Reymond

Laboratoires de recherches du Centre anticancéreux romand, Hôpital cantonal de Lausanne, le 1er novembre 1949.

Summary

The study of 17–CS urinary elimination points out that the urinary volume per 24 h can be correlated with the 17–CS concentration. However, total amount of 17–CS per 24 h is not directly proportional to the urinary volume excreted during that period. No statistically significant difference in the elimination of 17–CS is found between men and women. These values agree with those of other authors.

[1] A. M. Robinson, Brit. J. Cancer *2*, 13 (1948).
[2] R. K. Callow, N. M. Callow et C. W. Emmens, l. c.
[3] A. F. Holtorff et F. C. Koch, J. Biol. Chem. *135*, 377 (1940),
[4] E. W. McHenry, E. M. Semmons, R. Pearse et E. G. Meyer, ancer Res. *7*, 534 (1947).

Der Einfluß von Vitamin E auf *Daphnia longispina* O.F.M.

A. VIEHOEVER berichtet, daß Tokopherol (angereichertes Preßöl von Weizenkeimlingen) die in übervölkerten *Daphnia magna*-Kulturen stark verminderte Vermehrung innert 48 Stunden wieder anzuregen vermag[1].

Es wurde mit einer andern als der von VIEHOEVER gewählten Versuchstechnik der Einfluß von Vitamin E auf den Lebensablauf von *Daphnia longispina* O.F.M. untersucht:

Das Vitamin E wurde uns als *dl*-α-tokopherol-phosphorestersaures Na in verdankenswerter Weise von der Firma Hoffmann-La Roche & Co. zur Verfügung gestellt.

1000 Tiere, die alle einer mit *Scenedesmus quadricauda* gefütterten reinen Linie entstammen, wurden in Gruppen zu 10 in 200 cm^3 Kulturwasser[2] gehalten und täglich beobachtet. Als Futter erhielten sie suspendierte Bäckerhefe, die stabilisiert worden war (Trocknung bei 40^0 C im Luftstrom[3]). Jeden zweiten Tag wurden die Daphnien über eine Passage von destilliertem Wasser in frisch zubereitetes Kulturwasser übergeführt. Das Zählen der Tiere erfolgte täglich, ebenso das Entfernen der toten und neugeborenen.

Die Kontrolltiere erhielten nur Bäckerhefe, die Versuchstiere zusätzlich Vitamin E (0,5 mg/200 cm^3 Wasser) bei jedem Wasserwechsel. Die Temperatur schwankte während der Versuchsdauer zwischen 18 und 20^0 C.

Aus den für jeden Tag errechneten Lebenserwartungen der überlebenden Daphnien ergeben sich die hier interessierenden Zahlenwerte (s. Tabelle).

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Daphnien, die von Geburt an Tokopherolzusätze erhielten, eine Lebenserwartung haben, die von der der Kontrolltiere deutlich verschieden ist. Weiter kann den Zahlen entnommen werden, daß nach einer gewissen Wartezeit (im Versuch 6 Tage) ein Zusatz von Vitamin E unter den betreffenden Bedingungen keinen Einfluß mehr auf die Lebenserwartung der Versuchstiere hat.

Vergleicht man die Lebenserwartung der Jungen von Vitamin-E-Tieren mit derjenigen der Jungen von Zuchttieren (Algenfutter) bei reiner Hefeernährung, so zeigt es sich, daß kein Unterschied besteht; die dabei erhaltenen Werte stimmen mit den bei den Kontrolltieren errechneten Lebenserwartungen recht gut überein.

Die Vermehrung der Versuchstiere wie auch der Kontrolltiere war sehr klein und lag für beide Gruppen unterhalb 0,1 Junges pro Weibchen und Tag. Mit Algen gefütterte Daphnien zeigten zur selben Zeit eine etwa 12mal größere Vermehrungsrate.

Zusammenfassung. Aus den Versuchsergebnissen kann geschlossen werden, daß *dl*-α-tokopherol-phosphorestersaures Na unter den angegebenen Bedingungen einen günstigen Einfluß auf die Lebenserwartung von *D. longispina* hat, daß aber im Gegensatz zu VIEHOEVER keine Wirkung auf die Vermehrung der Versuchstiere beobachtet werden kann.

EDW. FLÜCKIGER und H. FLÜC

Pharmakognostische Abteilung des Pharmazeutische Instituts der ETH., Zürich, den 31. Oktober 1949.

Summary

The influence of a water-soluble vitamin E upon th duration of life and the propagation of *D. longispina* h been studied. The animals were kept in artificial cultu medium[1] and lived on stabilized baker's yeast[2]. could be shown that administration of vitamin E i creases under the described conditions the averag length of life in *D. longispina*, but that it has no detec able influence upon their propagation.

[1] A. VIEHOEVER, Amer. J. Pharm. *110*, 297 (1938).
[2] EDW. FLÜCKIGER und H. FLÜCK, Exper. *5*, 486 (1949).
[3] H. INGOLD, *Aneuringehalt und Gärgeschwindigkeit von Hefepräparaten*, Diss. (Bern 1948).

[1] EDW. FLÜCKIGER und H. FLÜCK, l. c.
[2] H. INGOLD, l. c.

Some Observations about the Morphology of Bacteriophage

The morphology of bacteriophage can be studied wit the help of the electron microscope[1]. In his last pape

Fig. 1.

[1] H. RUSKA, Arch. Virusforschung *2*, 343 (1942). – N. KOTTMAN Arch. Virusforschung *2*, 388 (1942). – S. E. LURIA, M. DELBRÜCK, a T. F. ANDERSON, J. Bact. *46*, 57 (1943).

Bedingung	Vitamin E vom 0. Tag an	Vitamin E vom 2. Tag an	Vit. E vom 4. Tag an	Vit. E vom 6. Tag an	Kontrolltiere	Junge aus 1. Kolonne	Junge aus Zucht
Anzahl	3·100	100	100	100	3·100	50	50
$t/2$	9,8–20,5	22 5	10,9	4,2	4,2–10,3	7,9	7,8
$t/4$	28,5–40,1	34,9	32,1	6,0	6,1–21,4	15,1	13,6
w	50 –58	55	59	17	21 –35	27	21

$t/2$ Zeit in Tagen, bis 50% der Tiere gestorben sind $t/4$ Zeit in Tagen, bis 75% der Tiere gestorben sind
w Lebensdauer des ältesten Tieres eines Versuches

Vyckoff[1] demonstrated how the phages develop and ıultiply within the host cell. He studied the morphology f plaques and the development of the phages T 2, T 3, nd T 4 in liquid medium. His work showed that the evelopment of the phage is accompanied by very dif-ɜrent modes of production. It seems that the observed henomena are those to be expected of particles be-aving as if they were minute microorganisms multiply-ıg by division at the expense of the bacterial proto-lasm. The manner in which the conversion of bacterial rotoplasm to the phage particles is effected is, of ourse, the answer to the question how bacteriophage ıultiplies. No definite answer to this has yet been iven.

We publish here our own observations which bear on his problem. The cultures of *Escherichia coli* were ultivated for one hour in broth, then mixed with phage nd, after several hours, centrifuged, washed with aline and with distilled water. After each washing they ere recentrifuged. A microdrop of the final suspension as placed on the screens and shadowed with chromium t an angle of 16°. We used phage T 2 and a wild type hage, which is probably T 3 or T 7.

(*a*) Rod-like structures. Fig. 1 shows lysis with phage 2, and Fig. 2 a similar lysis with wild-type phage. Both hese figures show peculiar rod-like structures, which n the lower part of Fig. 1 form a part of the tail. On he other photograph these structures are a little idened at the end so that it looks as if the round acromolecules of the phage would be formed from hese rods. Single phage particles can be seen around he lysed bacterial cell. On Fig. 1 the tail is a little hinner than the rod. This circumstance perhaps is xplained in Fig. 3, where the lysed bacterial cell is ompletely converted into phage particles, and where on everal phage particles a cylindrical thickening is learly visible. This gives the impression that the tail ı formation is thicker than its final form. In our col-ɜction of electron micrographs we have pictures where nany rod-like structures are lying here and there among he phage particles in the decomposed bacterial mass. t seems that these rods are in some relation to the ormation of tail of phage T 2.

(*b*) Agglomeration of phage particles. Wyckoff ob-erved several times that the bacterial cell is converted ıto phage particles without remnant. In such a case we bserved peculiar formations which are demonstrated ı Fig. 4. Four particles of the phage are stuck together, nd only two of them have tails. This is phage T 2, very particle of which should have a tail. Fig. 4 shows ıat the phage particle has a thinner region down its enter. It is, of course, difficult to say whether the article is in a state of division or fission, or whether ıis phenomenon is due to the drying process. We have bserved that in some cases the body of the phage is rescent-shaped, especially the young forms.

(*c*) Different scattering power of the phage particles. ig. 5 shows phage T 2. In the middle are particles which re not fully developed, on the edge of the colony are ılly grown bodies. It can be clearly seen that the latter nes are bigger and scatter the electrons more than the articles in the centre of the colony. This may be a

Fig. 2.

Fig. 3.

[1] R. W. G. Wyckoff, Bioch. et biophysica acta *2*, 27 (1948); ioch. et biophysica acta *2*, 246 (1948); Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *1*, 144 (1949); Nature *162*, 649 (1948).

consequence of a larger water content of the undeveloped particle.

Ferdinand Herčík

Institute for Biology, Medical Faculty, Masaryk University Brno, Czechoslovakia, October 16, 1949.

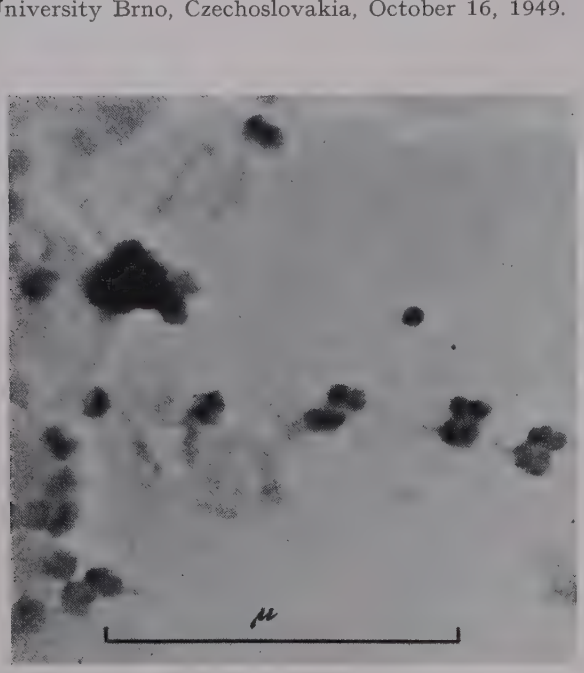


Fig. 4.

Zusammenfassung

In den lysierten Zellen von *E. coli* wurden stäbchenförmige Strukturen beobachtet, die vielleicht mit der Bildung der Geißel im Bakteriophagen T 2 in Beziehung stehen. Andere Elektronenbilder zeigen teils einen Prozeß, der der Spaltung des Bakteriophagkörpers ähnelt, teils eine verschiedene Streuung der Elektronen in jungen und in alten Bakteriophagkörpern.

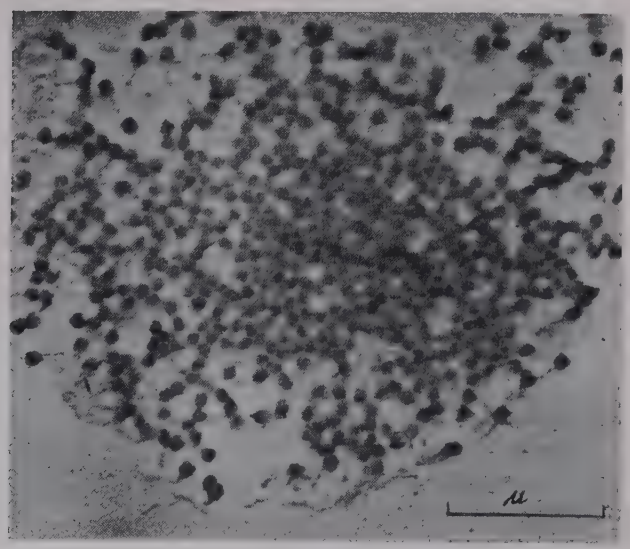


Fig. 5.

Filaments in Cultures of Bacteriophage

Herčík has very recently described[1] the presence o filaments in cultures of bacteriophage growing o susceptible colon bacilli. It is the purpose of the presen note to confirm the existence of such filaments and t offer additional evidence of their intimate relation t the more familiar sperm-like units of bacteriophag activity.

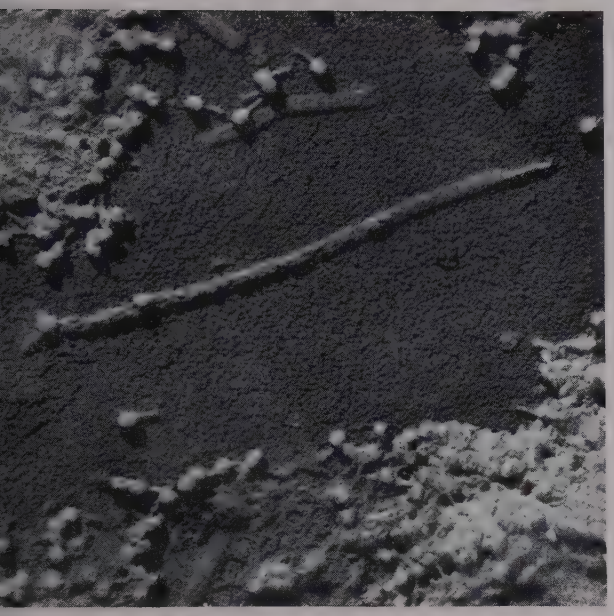
Filaments of the general shape and size described b Herčík appear in more than 200 electron micrograph we have taken of products of lysis of *Escherichia col* With very few exceptions these objects have been see after lysis with the even-numbered strains T 2 and T 4 the wild strain used by Herčík, on the other hand, seem to have more the appearance of an odd-numbered strai The filaments under discussion always are of a constan and uniform diameter which is essentially that of th particles of phage. Sometimes they are like flat ribbon or collapsed tubes (Fig. 1), sometimes they are mor substantial cylindrical objects. Occasionally they ar fairly uniform but usually they are more or less complete ly broken up into segments which commonly (Fig. 2 have approximately the dimensions of mature phag particles. Very often a filament will have parts that ar empty and other parts that have this segmente character.

It is not yet possible to define precisely the exper mental conditions under which these filaments ar produced. We have never found them when lysis ha been carried out under optimal conditions using youn and especially susceptible bacteria. Lysis can procee at a retarded rate at temperatures below 37° C; in ou experiments filaments have appeared most often i cultures which have been inoculated with a concentratio of bacteriophage insufficient for immediate infection o all bacteria. If lysis is allowed to proceed in such culture at room-temperature or in the ice-box for period of time varying between a number of hours an several days, many filaments are sometimes produced

These filaments do not resemble the flagellar proces ses that also are to be seen during the lysis of the strain of *E. coli*. These flagella are of two sorts. One ha the appearance of very delicate peritrycate flagella whic develop on organisms in a several hour-old culture. The can develop in the absence of bacteriophage. The othe is far thicker, of a uniform and constant diameter that about that of the tail of a normal bacteriophage particle A short length of such an intermediate filament appear at the right of Fig. 1. Like the more numerous larg filaments that are the principal subject of this note these tail-sized filaments have been seen only in bac teriophage-diseased cultures.

It would be rash to try to decide yet concerning th significance of these filamentous forms. They have neve been seen except in bacteriophage-infected cultures an presumably, therefore, should be considered as a aspect of the bacteriophage-bacterial system. The definitely are not a step in the normal process whereb bacteriophage proliferates, whatever that may be; bu one cannot ignore the possibility that they are involve in the multiplication of bacteriophage under less tha optimal conditions, and perhaps, as Herčík's observ ations suggest, during the laboratory adaptation o recently isolated strains. As such a possible stage i

[1] F. Herčík, Exper. *6*, 64 (1950). Through the courtesy of th author, the writer has had the opportunity to see this article befo publication.



g. 1. – Filaments and mature bacteriophage particles from a iture of *E. coli* lysed with T2. Short lengths of filament at the top this photograph are empty; that in the center is partly so. 30,000 ×.

g. 2. – The filament appearing at the center of this photograph is ided into segments having the same size as the heads of mature bacteriophage particles. 30,000 ×.

cteriophage growth, they recall the morphologically nilar filaments that are seen in freshly isolated strains influenza virus as grown in chick embryos[1].

RALPH W. G. WYCKOFF

Laboratory of Physical Biology, Experimental Biology d Medicine Institute, National Institutes of Health, thesda, Md., December 5, 1949.

[1] V. M. MOSLEY and R. W. G. WYCKOFF, Nature *157*, 263 (1946). – W. G. WYCKOFF, *Electron Microscopy* (New York, 1949), p. 154, – C. M. CHU, I. M. DAWSON, and W. J. ELFORD, Lancet *1*, 602 49).

Zusammenfassung

Kulturen von T2-Bakteriophagen, die durch eine Lyse von *E. coli* bei niedriger Temperatur erhalten worden waren, wurden im Elektronenmikroskop untersucht. Hierbei wurden Fasern gefunden, die oft Segmente von der Größe bakteriophager Teilchen aufweisen. Sie dürften wohl ungewöhnliche Phasen des lytischen Vorganges sein.

Der Einfluß künstlicher Durchströmung auf den postmortalen Schwund der Cochlearpotentiale

Die vielfach auch als WEVER-BRAY-Effekt bezeichneten Cochlearpotentiale (CP) schwinden bekanntlich nach Eintritt des Todes sowie bei lokaler Anämie, ferner werden sie durch eine exzessive Blutdrucksenkung, wie sie als Histaminwirkung auftritt, reduziert (GISSELSSON[1]). Dagegen konnte eine vorübergehende direkte Beeinflussung ihrer Amplitude durch Pharmaka bisher nicht nachgewiesen werden (JUUL[2]). Von BORNSCHEIN und KREJCI[3] wurde beim Meerschweinchen während temporärer Anoxie ein vollkommen reversiblerPotentialverlust beobachtet, der in Ausmaß und zeitlichem Verhalten der raschen ersten Phase des postmortalen Potentialschwundes entsprach und dessen Größe sowohl von der Intensität als auch von der Frequenz des Schallreizes unabhängig war. Zur Entscheidung der naheliegenden Frage, ob nicht auch in diesem Falle sekundäre Kreislauffolgen die unmittelbare Ursache darstellen, wurde bei 12 Katzen Blutdruck und Amplitudengröße der CP synchron registriert und der Effekt verschiedengradiger Hypoxie mit demjenigen kreislaufwirksamer Pharmaka verglichen. Die Ergebnisse zeigten ein keineswegs paralleles Verhalten beider Größen bei Hypoxie, was gegen die obige Annahme und für eine unmittelbare lokale Wirkung der Anoxämie sprach. Die erwähnte Parallelität zwischen Anoxieeffekt und erster Phase des postmortalen Schwundes legte es nahe, den Einfluß einer nach Unterbrechung des natürlichen Kreislaufes durchgeführten Durchströmung des Versuchstieres mit verschiedenen blutisotonen Lösungen auf die Amplitude der CP zu untersuchen.

Bei 11 narkotisierten Meerschweinchen (1,7 g/kg Urethan) wurde die Amplitude der durch einen Schallreiz konstanter Frequenz und Intensität erregten CP mittels früher beschriebener Apparatur als Hüllkurve fortlaufend registriert, wobei während des Versuches eine Kanüle in die Aorta eingebunden und das Tier nach Abtrennung des Herzens unter konstantem Druck (100 mm Hg) zunächst 1–2 min lang mit Ringerlösung und hierauf mit verschiedenen, aus Pferde- und Hundeblut hergestellten Präparationen (Heparinblut, Erythrozytensuspension in Ringer, Hämoglobinlösung) verschiedenen O_2-Gehalts durchströmt wurde. Die Verwendung artfremden Blutes ergab sich aus der Notwendigkeit einer Bereitstellung größerer Blutmengen. Der Beginn der Durchströmung erfolgte im allgemeinen 2½–4 min nach Thoraxeröffnung. Bei der Auswertung der Kurven wurden die relativen Änderungen der Amplitude gegenüber dem Ausgangswert in Dezibel (db) berechnet.

In keinem der 11 Versuche wurde irgendeine Beeinflussung des postmortalen Potentialschwundes durch die einleitende Durchströmung mit Ringerlösung beobachtet. Hingegen konnte in 8 Versuchen ein Einfluß der genannten Blutpräparationen nachgewiesen werden, wobei die fehlende Reaktion in den übrigen 3 Versuchen auf technische Mängel (verspätete bzw. ungenügende

[1] L. GISSELSSON, Kungl. Fysiograf. Sällskapets Lund *19*, 9 (1949).
[2] A. JUUL, Acta otolaryngol. Suppl. *74*, 104 (1948).
[3] H. BORNSCHEIN und F. KREJCI, Mschr. Ohrenheilk. *83*, 190 (1949); Exper. *5*, 359 (1949); Mschr. Ohrenheilk. *83*, 386 (1949).

Durchströmung) zurückzuführen war. Die mit O_2-gesättigtem Heparinblut erreichte Erholung betrug in den einzelnen Versuchen 8 db (bei 13 db Verlust im Augenblick des Durchströmungsbeginns), 6 db (bei 20 db Verlust) sowie 5 db (bei 6 db Verlust), während bei letztgenanntem Versuch die erholende Wirkung einer bei tiefer Hypoxie des Spenderhundes entnommenen Blutprobe nur 1 db betrug. Mit O_2-gesättigter Erythrozytensuspension konnte eine Erholung von 5 db (10 db Verlust) und 9,5 db (10,5 db Verlust) erzielt werden. Ein Verlust von 9,5 db konnte durch eine Erythrozytensuspension, die durch vorsichtiges Entgasen teilweise reduziert worden war, auf 4 db und durch anschließende Durchströmung mit O_2-gesättigter Suspension auf 1 db herabgesetzt werden. O_2-gesättigte Hämoglobinlösung (Hämolyse bei –1° C, durch NaCl-Zusatz isotonisch) bewirkte in 2 Fällen zwar keine Erholung, jedoch eine jeweils 3 min lang beobachtete vollständige Hemmung des mit einer Geschwindigkeit von 3 db/min verlaufenden Potentialschwundes, der bei anschließender Ringerdurchströmung sofort wieder einsetzte. Was die zeitlichen Verhältnisse der Reaktion auf Heparinblut und Erythrozytensuspension betrifft, so setzte das Anwachsen der Potentialamplitude innerhalb weniger Sekunden nach dem Einströmen ein, um nach 30–40 sec ein Maximum zu erreichen, dessen Dauer außer in einem Versuch, wo sie 9 min betrug, nicht näher untersucht wurde. Diese rasche Reaktion, die dem in dem eingangs erwähnten Untersuchungen festgestellten Verhalten bei temporärer Anoxie entsprach, erscheint ebenso wie die ausgeprägte Sauerstoffempfindlichkeit im Hinblick auf die in Frage kommenden Entstehungstheorien der CP von Bedeutung. Die angewandte Methode der künstlichen Durchströmung bietet Möglichkeiten zu weiteren Untersuchungen.

H. BORNSCHEIN und F. KREJCI

Physiologisches Institut der Universität Wien und I. Universitätsklinik für Ohren-, Nasen- und Kehlkopfkrankheiten, Wien, den 10. September 1949.

Summary

The influence of various perfusing fluids on the cochlear potentials has been proved in 11 experiments on guinea-pigs. Foreign blood or red blood cells in Ringer's solution increased the magnitude of the *post mortem* reduced electrical response. The increase started immediately with the beginning of the perfusion. The degree of the increase depended upon the oxygen content of the perfusing fluid. A solution of oxyhæmoglobin caused an inhibition of the postmortal reduction, but did not increase the potentials. Ringer's solution had no influence.

DISPUTANDA

Zur Frage der Bildung von Nickeltetracarbonyl aus Nickelsalzen mit CO

Erwiderung auf die Bemerkung von H. E. Fierz-David [1]

Es ist richtig, daß in der Dissertation Nr. 329, ETH., Zürich, 1923, von J. H. WEIBEL, betitelt *Reaktionen einiger Metallsalzlösungen unter erhöhten Temperaturen und Drucken* u. a. die Bildung von Nickelcarbonyl beim Erhitzen wäßriger, stark ammoniakalischer Nickelsalzlösungen mit Kohlenoxyd (150° C und 100 atü) beobachtet wurde. Die hierbei erzielten Ausbeuten an Nickelcarbonyl betrugen nur 15–20% d. Th. Es wurde a genommen, daß zunächst, wohl unter dem Einfluß d Kohlenoxyds, eine Abscheidung von metallische Nickel erfolgt, das dann unter den Versuchsbedingung in Nickelcarbonyl übergeht. Die geringe erzielte Au beute wurde auf das Zustandekommen eines Gleic gewichts zurückgeführt.

Unsere Arbeiten aus den Jahren 1938/39, die oh Kenntnis der genannten Dissertation, die in der Li ratur keinen Niederschlag gefunden hat, im Rahm unserer Forschung auf dem Gebiete des Acetylens u Kohlenoxyds durchgeführt wurden, ergaben auch b Autoklavenversuchen in diskontinuierlicher Arbei weise eine quantitative Überführung der Nick hexamminsalze in überschüssiger wäßriger NH_3-Lösun in Nickelcarbonyl, das in Substanz ohne weiteres bei Aufarbeiten des Autoklaveninhalts gewonnen werd kann. Das Reaktionsprodukt besteht in diesem Fa aus 2 Schichten: die untere ist Nickelcarbonyl, d obere eine ammoniakalische wäßrige Lösung von Am moniumchlorid und Ammoniumcarbonat, aus der m Kalkmilch das Ammoniak in Freiheit gesetzt und v neuem dem Prozeß zugeführt werden kann. Eine inte mediäre Bildung von metallischem Nickel wurde n beobachtet und tritt auch mit Sicherheit nicht auf, d wir sie sonst bei unseren kontinuierlichen Versuchen i halbtechnischen Maßstab sicher hätten beobacht müssen. Die Bildung des Nickelcarbonyls erfolgt gla und quantitativ nach der summarischen Gleichung:

$$[Ni(NH_3)_6]Cl_2 + 5\,CO + 2\,H_2O \longrightarrow Ni(CO)_4 + 2\,NH_4Cl + (NH_4)_2CO_3 + 2\,NH_3$$

Auch bei Eisensalzen (Mohrsches Salz und übe schüssiger ca. 30%iger wäßriger NH_3-Lösung) ist i Gegensatz zu den Resultaten der erwähnten Disse tation eine weitgehende Überführung des Eisens Eisenpentacarbonyl unter ganz analogen Bedingung (80° C und ca. 100 atü CO) zu erzielen. In diesem Fa entsteht zunächst Eisencarbonylwasserstoff bzw. dess Ammoniumsalz nach

$$[Fe(NH_3)_6]SO_4 + 6\,CO + 4\,H_2O \longrightarrow Fe(CO)_4H_2 + (NH_4)_2SO_4 + 2\,(NH_4)_2\,CO_3$$

der, wie wir fanden, bei weiterer Einwirkung von C quantitativ in Eisenpentacarbonyl und Wasserstoff ze fällt nach

$$H_2Fe\,(CO)_4 + CO \longrightarrow Fe(\,CO)_5 + H_2$$

so daß die Gesamtgleichung wie folgt lautet:

$$[Fe(NH_3)_6]\,SO_4 + 7\,CO + 4\,H_2O \longrightarrow Fe\,(CO)_5 + (NH_4)_2\,SO_4 + 2\,(NH_4)_2\,CO_3 + H_2$$

Im Falle der Kobaltsalze entsteht unter den angeg benen Bedingungen (stark ammoniakalische, wäßri $CoCl_2$-Lösung bei ca. 120° und ca. 100 atü CO) praktis quantitativ Kobaltcarbonyl-Wasserstoff bzw. dess Ammoniumsalz, aber kein Kobaltcarbonyl. Kobal carbonylwasserstoff ist in alkalischer Lösung, wie w fanden, sehr stabil und reagiert im Gegensatz zu Eise carbonylwasserstoff nicht mit Kohlenoxyd. Nach de Ansäuern der Reaktionslösung kann das dimere nic flüchtige Kobaltcarbonyl $[Co(CO)_4]_2$ gewonnen werde da der beim Ansäuern in Freiheit gesetzte Kobal carbonylwasserstoff in dimeres Kobaltcarbonyl u Wasserstoff zerfällt. Zweckmäßigerweise wird jedo der Kobaltcarbonylwasserstoff nach vorsichtigem A säuern der Reaktionslösung im Vakuum abdestillie und unter Tiefkühlung in fester Form aufgefange Nach dem Schmelzen und vorsichtigen Erwärmen ze

[1] H. E. FIERZ-DAVID, Exper. *5*, 487 (1949).

llt er bereits bei Temperaturen unter 0° in dimeres obaltcarbonyl und Wasserstoff. Auch hier unterheiden sich unsere Ergebnisse ganz wesentlich von enen WEIBELS, der nur Spuren eines «flüchtigen obaltcarbonyls» durch Metallspiegel nachweisen konnte.

Näheres über die Herstellung von Metallcarbonylen nd Metallcarbonylwasserstoffen aus den ammoniaalischen Lösungen der entsprechenden Metallsalze mit O unter Druck sind aus der kürzlich im Springer-Verlag rschienenen Vortragssammlung *Neue Entwicklungen uf dem Gebiet der Chemie des Acetylens und Kohlenxyds* (Verfasser W. REPPE) ersichtlich.

Weitere eingehendere Veröffentlichungen werden emnächst in «Liebigs Annalen» folgen, wobei auch auf ie Dissertation von WEIBEL verwiesen werden wird.

WALTER REPPE

Hauptlaboratorium der Badischen Anilin- und Sodabrik, Ludwigshafen a. Rhein, den 8. Dezember 1949.

PRO LABORATORIO

A Precision-Measuring Adapter for Small-Volume Syringes

In 1937 W. STRAUB[1] described a device for syringes f small volume designed to: Enable the injection of *recise* volumes of material; to avoid loss of substance y displacement of the plunger during the transfer of he syringe to the animal and assure a better protection gainst breaking the very delicate plungers of small yringes.

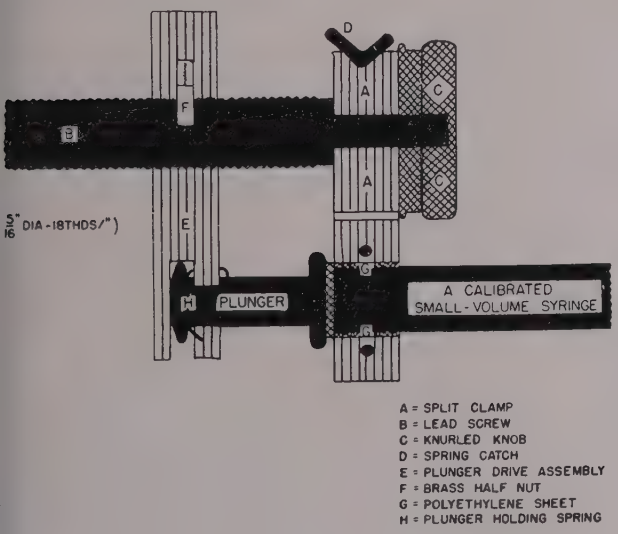


Fig. 1.

Using syringes armed with STRAUB's device and alibrated with analytical accuracy, the distance beween two gradations still had to be read by the naked ye which thus became the limiting factor, implying sually some personal error. Therefore, a modified evice was designed which eliminates visual reading by neans of an automatic stop of the plunger at every ·01 ml gradation. It was applied to a 0·25 ml tuberculin ype glass syringe. Needles of 25 gauge have been used for the injection and the first few drops were discarded to assure removal of all air from the syringe.

The apparatus (Figs. 1 and 2) consists of a split clamp *A*, made from a $^3/_8$ square duralumin rod, which fastens on the syringe. A semiflexible polyethylene sheet *G* (or rubber) is placed between the syringe and clamp *A*, in order to prevent breakage by direct compression of *A* on the syringe. Clamp *A* also carries the screw *B*, with a knurled knob *C*. A spring catch *D* falls into the slot in the edge of the knob so that one turn of *C* allows the plunger to move 0·01 ml. The plunger is activated through *E*, also made from a $^3/_8$ square duralumin rod, with one hole in which the lead screw *B* fits snugly and another hole which fits the plunger loosely. A spring *H*, attached to *E*, snaps over the plunger and holds it tightly against the side of *E*, which pushes the plunger. Both holes in *E* have transverse slots cut through them,

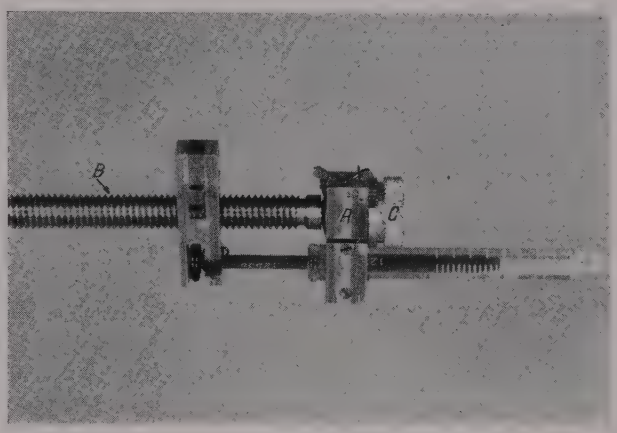


Fig. 2.

and one side of the hole, where the plunger fits, is slotted, allowing *E* to swing out of the way so as to make cleaning easier. The upper slot carries a brass half-nut *F*, with springs which hold the nut down on the lead screw *B*. Pulling on *F* releases the half-nut from the lead screw and all of the assembly *E* can be moved quickly in a lateral direction. Letting go of *F* brings the nut back into mesh with the screw threads again, and the plunger can be moved by turning the knob *C*.

The device, as described above, has been used for 5 months in work with steroid material and may prove helpful in any work with substances to be injected in small volumes.

Acknowledgements. We wish to thank Dr. OTTO KRAYER, Professor of Pharmacology, Harvard Medical School, for calling our attention to STRAUB's device. – The technical help of Mr. F. J. CHRISTENSEN, Harvard Machine Shop, in constructing the device is appreciated.

FRANZ HALBERG

Department of Medicine, Harvard Medical School
The Medical Clinic, Peter Bent Brigham Hospital
Boston, Mass., November 1, 1949.

Summary

Es wird eine Spritze beschrieben, die mittels einer automatischen Arretiervorrichtung des Kolbens – ohne visuelle Kontrolle des Injizierenden – die Verabreichung genauer Mengen von der Größenordnung eines hundertstel Kubikzentimeters Flüssigkeit ermöglicht.

[1] W. STRAUB, Arch. exper. Path. Pharm. *185*, 456 (1937).

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

On the Theory of Stochastic Processes and their Application to the Theory of Cosmic Radiation

By Niels Arley. 240 pp.
(John Wiley & Sons, Inc., New York) Reprint 1948. $5.–)

Die «weiche Komponente» der kosmischen Strahlung, d. h. derjenige Anteil dieser Strahlung, der durch 10 cm Blei praktisch absorbiert wird, besteht, wie man weiß, aus positiven und negativen Elektronen und aus energiereichen γ-Quanten. Diese Strahlung ist im wesentlichen sekundärer Natur. Indem die Elektronen beim Durchdringen von Materie, z. B. der irdischen Lufthülle, γ-Quanten als Bremsstrahlung emittierten und die γ-Quanten ihrerseits Elektronenpaare erzeugen, multipliziert sich die Strahlung kaskadenartig. Dieser Multiplikationsvorgang ist statistischer Natur. Man kann somit nach der Wahrscheinlichkeit fragen, daß ein Elektron, indem es eine gewisse Schicht Materie durchdringt, N sekundäre Teilchen (Elektronen und γ-Quanten) erzeugt.

Das vorliegende Buch ist in der Hauptsache der Untersuchung und Beantwortung dieser Frage gewidmet. Es hat somit den Charakter einer Originalabhandlung, die allerdings einen ungewöhnlich großen Umfang aufweist.

Der Verfasser entwickelt im ersten Teil seiner Abhandlung die notwendige statistisch-mathematische Theorie. Insbesondere wird der Fall betrachtet, daß eine oder mehrere, von einem stetigen Parameter abhängige, statistische Variable gegeben sind, die nur ganzzahlige Werte annehmen können. Dieses Problem entspricht einem System von unendlich vielen, linearen homogenen Differentialgleichungen. Für deren Koeffizienten werden Bedingungen angegeben, die für die Existenz einer Lösung hinreichend sind. Die hierauf untersuchten, speziellen Modellprozesse entsprechen diesen Integrationsbedingungen und der Verfasser ist der Meinung, daß sie in jedem physikalischen Problem gelten sollten.

Die mathematische Theorie wird nun zur Diskussion der obenerwähnten physikalischen Frage verwendet. Zufolge der komplizierten Natur der elementaren Prozesse – Bremsstrahlung und Paarerzeugung – wird der wirkliche Vorgang durch einen der im mathematischen Teil diskutierten Modellprozesse angenähert.

Um die Theorie mit der Erfahrung zu vergleichen, hat man stets über das Spektrum der primären Elektronen zu mitteln. Es zeigt sich, daß deshalb die Resultate nicht wesentlich von den speziellen Modellprozessen abhängen und wohl auch darum gut mit der Erfahrung übereinstimmen. Ob man diese Tatsache, mit dem Verfasser, erfreulich finden will, mag eine Frage des persönlichen Geschmackes sein. Jedenfalls ist das der Grund, daß die gegenwärtig vorliegenden Experimente nicht ausreichend genau sind, um die feineren Aussagen der Theorie zu prüfen.

M. Fierz

Terrestrial Radio Waves

Theory of Propagation

By H. Bremmer. 343 pp., 91 figs.
(Elsevier Publishing Co. Inc., Amsterdam 1949)
(Fl. 18.–)

Das Buch behandelt die streng mathematischen Methoden zur Berechnung der Ausbreitung elektromagnetischer Wellen, ausgehend von einem Elementa dipol, über der Erde. Im ersten Teil werden die Beu gungsphänomene an der Erdkugel im Vergleich m mathematisch ähnlichen physikalischen Probleme untersucht.

Der zweite Teil bringt die Theorie der Dispersion Absorption und Brechung an der Ionosphäre und d Brechung in der unteren Atmosphäre. Ein breiter Raum ist der physikalischen Deutung der theoretischen Ab leitungen insbesondere durch geometrisch-optische Ap proximation gewidmet. Der Praktiker findet in einem besonderen Kapitel die wesentlichsten Berechnungs grundlagen in Formeln und sehr übersichtlichen gra phischen Darstellungen zusammengestellt.

Es ist dem Autor sehr zu danken, daß er die erwähnten Probleme einmal zusammenfassend streng und an schaulich behandelt hat, somit er Physikern und Tech nikern eine wertvolle Hilfe gibt und eine bisher vor handene Lücke in der Literatur sehr gut ausfüllt.

G. Klage

Supersonic Flow and Shock-Waves

By R. Courant and K. O. Friedrichs
464 pp., 216 Figs.
(Interscience Publishers, New York, 1948) ($7.00

Daß die Erforschung der Eigenschaften von Strö mungen mit Geschwindigkeiten, die größer als di Schallgeschwindigkeit sind, heute in breiter Front er folgt, ist nach der raschen Entwicklung der Flug technik und der Ballistik in den letzten Jahren nich zu verwundern. Sehr erfreulich ist es, daß auch Mathe matiker vom Fach sich aktiv beteiligen und de Physikern und Ingenieuren zu Hilfe kommen. Sie kön nen dabei auf das Vorbild von Riemann (1876) un Hadarmard (1903) hinweisen, die lange bevor prak tische Anwendungen in Frage kamen, wesentliche Über schallphänomene theoretisch vorausgesehen haben.

Das vorliegende Buch befaßt sich im wesentlichen nu mit reibungsfreien Vorgängen und legt besonders Ge wicht auf die Behandlung der Verdichtungsstöße, wäh rend andere Überschallprobleme wie Tragflügeltheorie Strömung um Geschosse usw. nur kurz erwähnt werden

Wenn nun Leute, die diese Dinge praktisch anwende müssen, befürchten könnten, daß da nur wieder di schrecklichen Verallgemeinerungen, die vielen Mathe matikern so teuer sind, zu finden sein möchten, s werden sie angenehm überrascht sein. Das Buch mach einen so mäßigen und vernünftigen Gebrauch der Ana lysis und befleißigt sich dermaßen der genauen Erläu terung durch zahlreiche Figuren, daß es eine ganz vor zügliche *Einführung* auch für solche Leser darstellt, di mit der Materie noch wenig vertraut sind.

Nach einer kurzen Einführung in die Grundgleichun gen der Gasdynamik folgt ein Kapitel über die Cha rakteristikentheorie der hyperbolischen Differential gleichungen und eine sehr ausführliche Darstellung de eindimensionalen, insbesondere natürlich auch de nichtstationären Strömung. – Hier werden weiter di Vorgänge bei der langsamen Verbrennung und der De tonation behandelt, ferner die Stöße in plastische Medien. Sodann folgt ein Hauptkapitel über eben Strömungen mit und ohne Stöße, das bekannte Busemann-Prandtische Verfahren und die gegenseitige Ein wirkung von Stößen. Kleinere Kapitel behandeln Düse

und freie Strahlen, rotationssymmetrische Fälle und Kugelwellen.

Für die Physiker und Mathematiker dürfte es von Bedeutung sein, daß in diesem Buche ein weit durchgeführtes Beispiel für die Behandlung nichtlinearer Differentialgleichungen vorliegt, das ihnen möglicherweise auch für ganz andere Aufgaben Anregungen geben kann, scheint es doch, daß die Ära der «linearisierten Physik» ihren Höhepunkt überschritten hat.

J. Ackeret

Kristalle und Gesteine

Ein Lehrbuch der Kristallkunde und allgemeinen Mineralogie

Von P. Eskola

397 Seiten mit 461 Abbildungen

(Springer-Verlag, Wien 1946) (sFr. 50.—)

Deutsche, insbesondere in Berücksichtigung neuer kristallchemischer Forschungsergebnisse umgearbeitete Übersetzung des 1939 in finnischer Sprache erschienenen Buches «Kiteet ja Kivet». Durch kriegsbedingte Schwierigkeiten hat sich die Herausgabe des Buches um zwei Jahre verzögert.

Wie schon Titel und Untertitel kundtun, werden in dem einen Band von noch nicht 400 Seiten sowohl die allgemeine Kristallkunde (Kristallgeometrie, -physik, -chemie) behandelt wie auch die Mineralparagenesen unter besonderer Berücksichtigung der Gesteine. In einem etwas als Anhang wirkenden Abschnitt wird schließlich ein Überblick über die spezielle Mineralogie gegeben. Mehr noch als in diesem werden im übrigen Text reichliche Beispiele auch aus der anorganischen Chemie, Metallkunde und organischen Chemie herangezogen.

Es wird also das gesamte Lehrgebiet der Mineralogie umfaßt. Das Bestreben, den Studierenden (auch denen der Chemie, Physik usw.) wirkliches Verständnis, einen Einblick in die großen Zusammenhänge und alle wichtigen einschlägigen Kenntnisse nach dem neuesten Stand in anregender und anschaulicher Form zu vermitteln, steht im Vordergrund. Bei allem Gelöstsein vom Herkömmlichen macht sich doch der heute verbreitete Ehrgeiz nicht geltend, ein Lehrbuch ganz neuen Typs zu schaffen oder bisher unbeachtete Zusammenhänge und Prinzipien voranzustellen.

Der Umfang des Stoffes verbietet jede Weitschweifigkeit und erfordert Straffheit und Klarheit in Gliederung und Ableitungen. Doch wird öde Gleichförmigkeit schon durch die Fülle der zwanglos eingefügten Beispiele glücklich vermieden. Daß dabei in der Petrographie, etwas mehr als man es sonst von deutschsprachigen Darstellungen gewohnt ist, skandinavische Vorkommen genannt werden, empfindet man nur als günstigen Ausgleich. Im übrigen offenbart sich gerade in diesen Kapiteln die große Selbstdisziplin des Verfassers bei Sichtung und Abwägung des Stoffes am meisten. Die Gesteinsmetamorphose wird an Hand der Mineralfaziesklassifizierung auf 26 Seiten (einschließlich Gefügekunde) besprochen. Der Widerstreit der Theorien auf dem Gebiet der Petrogenese wird nicht unterschlagen; es wird auch nicht auf eine eigene Stellungnahme verzichtet, doch bleibt sie immer maßvoll und abgeklärt.

Die vielen wohl ausgewählten Abbildungen und tabellarischen Zusammenstellungen, die den einzelnen Abschnitten beigegebenen Literaturnachweise und die sonstige vorzügliche Ausstattung verdienen noch besondere Erwähnung.

E. Baier

Die Immunitätsforschung

Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen

Bd. I: Antikörper. 1. Teil. Von R. Doerr. 259 Seiten mit 19 Abbildungen

(Springer-Verlag, Wien 1947) (sFr. 24.–)

Der Verfasser, dem wir bereits mehrere Monographien zu verdanken haben, die jahrzehntelang wertvolle Anregungen der Immunitätsforschung gegeben haben, hat uns mit diesem Bande über Antikörper das erste Glied einer Folge von Einzeldarstellungen geschenkt, die laut dem Plan des Springerschen Verlages voneinander unabhängig aufgebaut, doch ein abgerundetes Bild des ganzen Gebietes der Immunität geben sollen. – Die Resultate der Immunitätsforschung der letzten 10 Jahre haben unsere Kenntnisse über Antikörper wesentlich bereichert. Die elektrophoretische Fraktionierung der Serumproteine, die Einführung der Analyse mittels Ultrazentrifuge und der isotope Elemente enthaltenden Verbindungen in die serologische Technik sowie die erste kristallinische Darstellung der Antikörper haben die physikalisch-chemische Natur dieser außerordentlich komplizierten und den Chemikern früher schwer verständlichen Körper zum ersten Male mit wissenschaftlicher Exaktheit abgeklärt. Die einzelnen Kapitel der Monographie geben auch dem Außenstehenden klare, leicht verständliche Definitionen über Grundbegriffe, heben diejenigen Befunde älterer Autoren hervor, die am wesentlichsten zum Fortschritt beitrugen und analysieren die neuesten Resultate der Forschung immer in ihrem Zusammenhang mit dem früher Erreichten, und zwar mit einer kritischen Schärfe, die dem Verfasser eigen ist. Gerade diese Kritik mit ihrem lebhaft polemisierenden Ton, Widerlegungen, Bejahungen, Fragestellungen, wirken auf den Fachmann stimulierend und zeigen dem Außenstehenden die Schönheit dieses faszinierenden Gebietes der biologischen Wissenschaften, wo neben Erreichtem immer wieder neue Probleme gestellt werden können. Die beschränkte Beweiskraft der Versuche, wonach Antikörper auch *in vitro* erzeugt werden könnten, wird hervorgehoben, es ist aber schwer zu verstehen, weshalb die Versuche Seemüllers in diesem Kapitel beschrieben werden. Die *in-vitro*-Produktion der Antikörper wird sowohl auf Grund älterer wie neuerer Arbeiten ausführlich besprochen, wobei bei den genetischen Beziehungen zwischen Antigen und Antikörper besonders die aufsehenerregende Theorie von Pauling eingehend erörtert wird. Doch weist der Verfasser mit äußerst kritischem Sinn darauf hin, daß außer der Annahme, daß die Antikörper Immunglobuline sind, ihre wirkliche Natur experimentell noch immer nicht abgeklärt ist. Wir sind nicht einmal darüber orientiert, was das Globulin zu einem Antikörper macht. Im Gegensatz zu einer rein physikalisch-chemischen Definition mancher Autoren widmet Doerr mit Recht einen weitaus größeren Raum dem Antikörper vom Antigen aus betrachtet. Dieses Verfahren ist um so berechtigter, da die chemische Natur der Antigene in vielen Fällen vollkommen bekannt ist. Notwendigerweise entstehen dadurch Wiederholungen, wenn das ganze Gebiet der Immunität in Einzeldarstellungen umfaßt wird; eine Monographie der Antikörper kann aber ohne diese Betrachtung nicht als komplett betrachtet werden. Eine ausführliche Beschreibung der Antigen/Antikörper-Reaktionen, die Erörterung der Frage der Vielheit oder Einheit der Antikörper sowie die Besprechung der Hirst-Reaktion ergänzen die Monographie, die lange Zeit hindurch fruchtbare Anregungen den Forschern der Immunität zu geben vermag.

J. Tomcsik

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

DE PRINCIPIIS

Avant-propos de la rédaction. *A l'avenir, nous publierons, de temps en temps, sous la rubrique* DE PRINCIPIIS *une suite de brefs essais d'une portée philosophique et théorique rédigés par des théoriciens compétants et spécialisés dans une des branches des sciences naturelles. Pour cette collaboration la rédaction s'adressera, en général, elle-même aux auteurs.*

Redaktionelle Vorbemerkung. *Unter der Rubrik* DE PRINCIPIIS *erscheinen in zwangloser Folge kleinere Aufsätze theoretisch-philosophischen Inhalts von hierzu besonders berufenen Theoretikern einer naturwissenschaftlichen Teildisziplin. In der Regel werden diese Beiträge von der Redaktion eigens angefordert.*

Avvertenza della redazione. *Sotto la rubrica* DE PRINCIPIIS *appariranno di quando in quando brevi articoli di carattere teorico-filosofico ad opera di teorici d'un ramo delle scienze naturali specialmente competenti in tale materia. Questi lavori vengono per solito richiesti dalla redazione stessa.*

Editorial Remark. *Under the heading of* DE PRINCIPIIS *brief essays of theoretical-philosophical content by especially qualified theorists in particular fields of the natural sciences appear in loose sequence. As a rule such contributions will be requested by the editors.*

Die philosophische Bedeutung der Idee der Komplementarität[1]

Von W. PAULI, Zürich

1. Die Veröffentlichung dieses Vortrages erfolgt in der Hoffnung, mit diesem kleinen Beitrag diejenigen größeren Bestrebungen zu fördern, welche im allgemeinen das Ziel verfolgen, die verschiedenen Teildisziplinen, in welche unsere Geistigkeit auseinandergefallen ist, einander wieder näherzubringen. Die Abspaltung der Naturwissenschaften und der Mathematik als selbständige Teildisziplinen aus einer ursprünglich einheitlichen, aber vorwissenschaftlichen Naturphilosophie, welche im 17. Jahrhundert einsetzte, war zwar eine notwendige Bedingung für die weitere geistige Entwicklung des Abendlandes. Aber heute scheinen mir die Voraussetzungen für ein erneuertes Einverständnis der Physiker und der Philosophen über die erkenntnistheoretischen Grundlagen der wissenschaftlichen Naturbeschreibung erfüllt zu sein. Die Entwicklung der Atomistik und Quantentheorie seit 1900 hat nämlich dazu geführt, daß die Physik allmählich gezwungen war, ihren stolzen Anspruch, im Prinzip die *ganze* Welt verstehen zu können, aufzugeben. Alle Physiker, welche die Entwicklung bejahen, die in der systematischen Konstruktion des mathematischen Formalismus der Wellenmechanik im Jahre 1927 einen vorläufigen Abschluß fand, müssen zugeben, daß wir heute zwar Naturwissenschaften, aber kein naturwissenschaftliches Weltbild mehr besitzen. Eben dieser Umstand könnte aber als Korrektur der früheren Einseitigkeit den Keim eines Fortschrittes in Richtung auf ein einheitliches Gesamtweltbild in sich tragen, in welchem die Naturwissenschaften nur ein Teil sind. Hierin möchte ich die allgemeinere Bedeutung der Idee der Komplementarität erblicken, welche dank dem dänischen Physiker NIELS BOHR aus dem Boden der Physik gewachsen ist.

Im Gegensatz zur Relativitätstheorie wurde diese Wendung in der modernen Physik bis jetzt nur von einer kleinern Zahl philosophischer Fachvertreter zur Kenntnis genommen. Andrerseits haben einige Physiker die moderne Quantenphysik als Bestätigung spezieller philosophischer Richtungen, wie z. B. des Positivismus, gedeutet. Im Gegensatz zu dieser Ansicht möchte ich hier den Standpunkt vertreten, daß die erkenntnistheoretische Situation, vor welche die moderne Physik gestellt ist, von keinem philosophischen System vorhergesehen wurde.

Im folgenden möchte ich nun an einfachen Beispielen erläutern, wie innerhalb der Physik die Idee der Komplementarität eine Synthese von entgegengesetzten und einander zunächst widersprechenden Voraussetzungen ermöglicht hat. Zur Erreichung dieses Ziels waren allerdings weitgehende Verallgemeinerungen des alten Ideals der Kausalität und sogar des Begriffes der physikalischen Realität notwendig.

2. Das in der Physik berühmt gewordene Beispiel zweier einander widersprechender Vorstellungen, das uns hier beschäftigen soll, ist das des «Teilchenbildes» und des «Wellenbildes». Daß Teilchen keine Wellen und Wellen keine Teilchen sind, läßt sich bereits erkennen, wenn einem Energiestrom eine halbdurchlässige Platte entgegengestellt wird. Besteht dieser Strom aus einem Wellenvorgang oder aus *vielen* Teilchen, so wird ein bestimmter Bruchteil der Energie an der Platte reflektiert und der Rest hindurchtreten. Was geschieht jedoch, wenn im Fall des Teilchenstroms dessen Intensität so vermindert wird, daß während des Versuches praktisch nur ein einziges Teilchen die Platte trifft? Dieses wird im Gegensatz zum Fall des Wellenvorganges als unteilbares Individuum entweder durch die Platte hindurchtreten oder von ihr reflektiert werden, aber sicher nicht auf beiden Seiten der Platte zugleich erscheinen können. Der Unterschied der Konsequenzen beider Bilder ist also ebenso unüberbrückbar wie der analoge Unterschied der beiden logischen Relationen «entweder-oder» und «sowohl als auch».

Dennoch hat sich empirisch herausgestellt, daß das Licht sowohl Eigenschaften hat, die sich nur mit Hilfe des Wellenbildes, als auch andere, die sich nur mit Hilfe des Teilchenbildes beschreiben lassen. Zu den ersteren gehören die heute bereits klassisch gewordenen Interferenz- und Beugungserscheinungen. Das ihnen Gemeinsame besteht darin, daß das Licht derselben Quelle in mindestens zwei verschiedene Wege aufgespalten wird, die nachher wieder zusammentreffen. Bei letzterem Vorgang addieren sich jedoch nicht die Intensitäten der Teilstrahlen, sondern die Amplituden (Superpositionsprinzip), deren Quadraten die Intensitäten proportional sind. Die resultierende Intensität hängt sonach periodisch von der Phasendifferenz der Teilwellen ab, für die außer den optischen Konstanten der vom Licht durchlaufenen Medien die Längen der zurückgelegten Wege maßgebend sind. Die genaue geometrische

[1] Vortrag, gehalten in der Philosophischen Gesellschaft in Zürich im Februar 1949. Der physikalische Sachverhalt konnte im § 2 des Vortrages nur qualitativ kurz skizziert werden. Bezüglich der Einzelheiten möge auf die einschlägigen Arbeiten von N. BOHR, *Atomtheorie und Naturbeschreibung* (Berlin 1931), sowie seinen Artikel im Einstein-Band der Library of living Philosophers (Evanston, 1949), ferner auf W. HEISENBERG, *Die physikalischen Prinzipien der Quantentheorie* (Leipzig 1930), verwiesen werden. Der frühere Vortrag des Autors in der Philosophischen Gesellschaft Zürich, *Raum Zeit und Kausalität in der modernen Physik*, ist in der Zeitschrift Scientia *59*, 65 (1936) veröffentlicht worden.

Bestimmtheit dieser Phasendifferenz ist sonach eine notwendige Voraussetzung des Auftretens der Interferenzerscheinungen. Diese erweisen sich jedoch als von der Intensität des Lichtes unabhängig, sofern nur die zum Nachweis des Lichtes benützten Apparate genügend lange Zeit in Funktion sind.

Ein besonders auffallendes Beispiel einer Erscheinung, für deren Deutung das Teilchenbild das naturgemäße ist, bildet andrerseits der lichtelektrische Effekt, der in der Auslösung von Elektronen an einer Metallplatte durch Licht besteht. Während nämlich die Intensität des auffallenden Lichtes nur die *Anzahl* der pro Zeiteinteil ausgelösten Elektronen bestimmt, erweist sich die Energie der Elektronen als unabhängig von der Lichtintensität und als nur abhängig von der Wellenlänge (oder Schwingungszahl) des einfallenden Lichtes. Wie EINSTEIN 1905 gezeigt hat, läßt sich das Phänomen des lichtelektrischen Effektes quantitativ mit Hilfe der Vorstellung beschreiben, daß die Energie E und die Bewegungsgröße P des Lichtes bestimmter Wellenlänge und Fortpflanzungsrichtung in «Lichtquanten» oder «Photonen» der Größe

$$E = h\nu, \qquad P = h \; {}^1/\lambda \tag{1}$$

raumzeitlich konzentriert bleibt. Dabei bedeutet ν die Schwingungszahl, λ die mit dieser gemäß

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \tag{2}$$

verknüpfte Wellenlänge, c die Lichtgeschwindigkeit und h die durch PLANCK in die Theorie der Wärmestrahlung eingeführte und *Wirkungsquantum* genannte universelle Konstante. Zum Verständnis des lichtelektrischen Effektes genügt es, anzunehmen, daß die durch (1) gegebenen, elementaren Beträge von Energie und Bewegungsgröße nur als Ganzes emittiert und absorbiert werden können. Diese Annahme bewährte sich auch bei der Deutung anderer den Energieumsatz von Licht betreffenden Phänomene.

Man muß also schließen, daß das oben beschriebene Experiment mit der halbdurchlässigen Platte für Licht geringer Intensität zugunsten des entweder—oder ausfallen wird: ein einzelnes Photon wird entweder hinter oder vor der Platte in einer Photozelle oder photographischen Platte eine Wirkung hervorrufen, aber nicht gleichzeitig auf beiden Seiten. Die Anwendung dieses Teilchenbildes auf Interferenzerscheinungen erweist sich aber als nicht durchführbar. Nimmt man nämlich an, daß ein einzelnes Photon nur *einen* der Lichtwege durchläuft, auf deren Zusammenwirken die Interferenzerscheinung beruht, so müßte die Häufigkeit seiner Wirkung an einem Punkt, die stets der aus der Wellentheorie folgenden Lichtintensität (d.h. dem Quadrat der resultierenden Amplitude) an dieser Stelle proportional ist, von der Existenz von (unter Umständen weit abliegenden) Wegen abhängen, die es nicht durchlaufen hat. Ja, diese Trefferwahrscheinlichkeit müßte sich sogar wesentlich ändern, wenn der Beobachter z.B. eine Öffnung schließt, die das Photon gar nicht passiert hat; denn eine solche Operation ändert im Wellenbild wesentlich die möglichen Wege der Partialwellen, die für die resultierende Trefferverteilung des Photons maßgebend sind. Das Resultat ist übrigens an Stellen besonders drastisch, wo die Wellentheorie die Intensität Null ergibt, da dann die bloße *Möglichkeit* des Auftretens eines Photons an dieser Stelle (statt deren Häufigkeit im allgemeinen Fall) von der Gesamtheit der möglichen Wege des Photons abhängt. Der Interferenzversuch fällt demnach zugunsten des «sowohl – als auch» aus.

Längere Zeit hindurch schien dieses Dilemma unlösbar. Eine unerwartete Wendung in dieser Situation trat jedoch ein, als sich der Dualismus zwischen Wellenbild und Teilchenbild als *universell* erwies. Er besteht nicht nur für das Licht, sondern ebenso auch für alle materiellen Teilchen. Auch diese zeigen Interferenzerscheinungen, die sich nur mit Hilfe eines Wellenbildes beschreiben lassen. Und zwar sind nach DE BROGLIE Schwingungszahl und Wellenlänge dieser Wellen gemäß der nämlichen Formel (1) mit Energie und Bewegungsgröße der Teilchen zu verknüpfen, die auch für das Licht Geltung hat. (Nur die Formel (2) ist für Materiewellen durch eine allgemeinere zu ersetzen.)

Dies hat zunächst zur Folge, daß auch das Partikelbild eine charakteristische Begrenzung hat, und zwar nicht nur beim Licht, sondern auch bei der Materie. In der Wellenkinematik läßt sich leicht allgemein zeigen, daß Superpositionen von Wellen, sogenannte *Wellenpakete*, einen um so größeren Spielraum $\Delta\,(1/\lambda)$ der Wellenzahlen (reziproken Wellenlängen) ihres Spektrums enthalten müssen, je kleiner ihre räumliche Ausdehnung ist und umgekehrt. Allgemein ist das Produkt

$$\Delta x \; \Delta \left(\frac{1}{\lambda}\right) \sim 1 \tag{3}$$

höchstens von der Größenordnung 1. Gemäß der fundamentalen Verknüpfung (1) von Wellenlänge und Bewegungsgröße folgt daraus

$$\Delta P \; \Delta x \supset h \tag{4}$$

(wobei sich P und x auf Komponenten der zugehörigen Vektoren in derselben Richtung beziehen). Dies ist der Inhalt des berühmten HEISENBERGschen Ungenauigkeitsprinzips. Es ist nicht möglich, einem materiellen Körper, sei er makroskopisch oder atomar, elektrisch geladen wie ein Elektron oder neutral wie ein Photon, zugleich eine exakte Lage und einen exakten Wert seiner Bewegungsgröße zuzuschreiben. Denn im Wellenbild existieren keine «Pakete», die der Relation (3) widersprechen. (Für Energie und Zeit gilt Analoges, doch brauchen wir nicht darauf einzugehen.)

Dieses universelle Ungenauigkeits- oder Unsicherheitsprinzip ermöglicht es uns, einzusehen, daß die Anwendung des Wellenbildes und des Teilchenbildes nicht mehr in Widerspruch miteinander geraten können, da die Versuchsanordnungen mit dem Resultat zugunsten des «als – auch» (Wellenbild) und die andern Versuchsanordnungen mit dem Resultat zugunsten des «entweder – oder» (Teilchenbild) *einander ausschließen*. Um nämlich zu entscheiden, ob ein Photon den einen oder den andern von zwei (oder mehreren) Wegen eingeschlagen hat, muß ein Rückstoß nachgewiesen werden, den das Photon auf gewisse Teile der Apparatur (Schirme, Blenden, Spiegel usw.) ausübt. Mit Hilfe der *Erhaltungssätze von Energie und Bewegungsgröße* kann dann auf die Fortpflanzungsrichtung des Photons geschlossen werden. Für die Möglichkeit einer solchen Rückstoßmessung ist nicht nur nötig, daß gewisse Apparatteile gegen andere frei beweglich sind, sondern auch daß deren Bewegungsgröße vor ihrer Wechselwirkung mit dem Photon genügend genau bekannt ist. Gemäß der Unsicherheitsrelation (4) bedeutet das jedoch daß die Lage dieser Apparatteile vor dem Versuch dann nur mit einer unvermeidlichen Ungenauigkeit bekannt

ist. Eine quantitative Diskussion, die ich hier nicht wiedergeben kann, zeigt, daß diese Ungenauigkeit stets gerade von einem solchen Betrag ist, daß die für die Ausführung eines Interferenzversuches notwendige Bestimmtheit der Phasendifferenz verlorengegangen ist. Hat man daher nachgewiesen, daß ein Photon einen gewissen Weg sicher nicht eingeschlagen hat, so braucht dieser Weg auch für die Berechnung von Treffwahrscheinlichkeiten nicht in Betracht gezogen zu werden. Andrerseits erfordert eine Interferenzanordnung räumlich fixierte Apparatteile, bei denen die auf sie übertragene Bewegungsgröße stets unbestimmt bleiben muß. Eine Interferenzanordnung für ein Photon ist demnach ein Ganzes, das sich nicht in durch Raum und Zeit verfolgbare Kausalketten von weiteren das Photon betreffenden Ereignissen zerlegen läßt. Jeder Versuch einer solchen raumzeitlichen Verfolgung des Photons würde ja durch unbestimmbare Ortsveränderungen der Apparatteile das Interferenzphänomen zerstören.

3. Die Endlichkeit des Wirkungsquantums, die eine Unterteilung individueller Quantenprozesse ausschließt, stellt also die Physiker vor folgende Situation: Es ist unmöglich, den ganzen Einfluß des Meßapparates auf das gemessene Objekt durch determinierbare Korrekturen in Rechnung zu stellen. Jeder Gewinn an Kenntnis atomarer Objekte durch Beobachtungen muß mit einem unwiderruflichen Verlust anderer Kenntnisse bezahlt werden. Die Naturgesetze verhindern zum Beispiel den Beobachter, eine gleichzeitige Kenntnis sowohl von Energie und Bewegungsgröße als auch von raumzeitlicher Lokalisierung eines Objektes zu erreichen. Welche Kenntnis gewonnen und welche andere Kenntnis unwiderruflich verloren ist, bleibt der freien Wahl des Experimentators zwischen einander ausschließenden Versuchsanordnungen überlassen. Diese Situation wurde von BOHR mit «Komplementarität» bezeichnet. Der Unkontrollierbarkeit des Eingriffes der Beobachtung in das beobachtete System wird dadurch Rechnung getragen, daß die atomaren Objekte nicht in eindeutiger Weise durch die gewöhnlichen physikalischen Eigenschaften beschrieben werden können. Dadurch ist die Voraussetzung einer Beschreibung der Phänomene unabhängig von der Art ihrer Beobachtung nicht mehr erfüllt, und die physikalischen Objekte erhalten einen zwei- oder mehrdeutigen und daher symbolischen Charakter.

Die Beobachter oder Beobachtungsmittel, welche die moderne Mikrophysik in Betracht ziehen muß, unterscheiden sich demnach wesentlich von dem losgelösten Beobachter der klassischen Physik. Unter letzterem verstehe ich einen solchen, der zwar nicht notwendig ohne Wirkung auf das beobachtete System ist, dessen Einwirkung aber jedenfalls durch determinierbare Korrekturen eliminiert werden kann. In der Mikrophysik ist dagegen jede Beobachtung ein Eingriff von unbestimmbarem Unfang sowohl in das Beobachtungsmittel wie in das beobachtete System und unterbricht den kausalen Zusammenhang der ihr vorausgehenden mit den ihr nachfolgenden Erscheinungen. Die unkontrollierbare Wechselwirkung zwischen Beobachter und beobachtetem System bei jeder Messung macht daher die in der klassischen Physik vorausgesetzte deterministische Auffassung der Phänomene undurchführbar. Auch unter wohl definierten physikalischen Bedingungen lassen sich über die Resultate künftiger Beobachtungen im allgemeinen nur statistische Voraussagen machen, während das Resultat der Einzelbeobachtung nicht durch Gesetze bestimmt ist. In diesem Sinne kann man sagen, daß dem modernen Physiker das Irrationale als auswählende Beobachtung entgegentritt. Das nach vorherbestimmten Regeln ablaufende Spiel wird durch diese unterbrochen und eine Wandlung mit nicht vorhersagbarem Resultat hervorgerufen, die somit als wesentlich nicht automatisches Geschehen aufgefaßt wird[1].

4. Dieser Sachverhalt der Komplementarität innerhalb der Physik führt in natürlicher Weise über das engere Gebiet der Physik hinaus zu analogen Situationen bei den allgemeinen Bedingungen der menschlichen Erkenntnis. Innerhalb der Physik braucht allerdings der Begriff des Bewußtseins nicht direkt verwendet zu werden, da als Beobachtungsmittel auch ein automatischer Registrierapparat gedacht werden kann. Von diesem muß nur angenommen werden, daß er in der gewöhnlichen Sprache, eventuell ergänzt durch die Terminologie der klassischen Physik, beschreibbar ist. Dieses Beobachtungsmittel vertritt also ein technisch erweitertes erkennendes Subjekt. Auf diese Weise verallgemeinert die moderne Physik die alte Gegenüberstellung von erkennendem Subjekt auf der einen Seite zu der Idee des Schnittes zwischen Beobachter oder Beobachtungsmittel und dem beobachteten System. Während die *Existenz* eines solchen Schnittes eine notwendige Bedingung menschlicher Erkenntnis ist, faßt sie die *Lage* des Schnittes als bis zu einem gewissen Grade willkürlich und als Resulat einer durch Zweckmäßigkeitserwägungen mitbestimmten, also teilweise freien Wahl auf.

In der Tat hat die Beziehung zwischen Subjekt und Objekt paradoxe Eigenschaften, die eine weitgehende Analogie zu der Beziehung zwischen Beobachtungsmittel und beobachtetem System haben, wie wir ihr in der Quantenphysik begegnen. BOHR kennzeichnet diese Paradoxie der Erkenntnis in folgender Weise[2]: «Einerseits verlangt die Beschreibung unserer Gedankentätigkeit die Gegenüberstellung eines objektiv gegebenen Inhalts und eines betrachtenden Subjektes, während andrerseits keine strenge Trennung zwischen Objekt und Subjekt aufrechterhalten ist, da ja auch der letztere Begriff dem Gedankeninhalt angehört». BOHR weist in dieser Verbindung auch darauf hin, daß «die bewußte Analyse eines jeden Begriffes in einem ausschließenden Verhältnis zu seiner unmittelbaren Anwendung steht».

Der Begriff des Bewußtseins verlangt eben einen Schnitt zwischen Subjekt und Objekt, dessen *Existenz* eine logische Notwendigkeit ist, während wiederum die *Lage* des Schnittes bis zu einem gewissen Grade willkürlich ist. Die Nichtbeachtung dieses Sachverhaltes gibt Anlaß zu zwei verschiedenen Arten metaphysischer Extrapolation, die selbst als zueinander komplementär bezeichnet werden können. Die eine ist die des materiellen oder allgemeiner physikalischen Objektes, dessen

[1] Die formale mathematische Operation, die einer tatsächlichen Beobachtung zugeordnet ist und deren Resultat die theoretischen Gesetze nicht bestimmen, ist die sogenannte «Reduktion der Wellenpakete». Die dabei affizierte abstrakte Wellenfunktion (im allgemeinen eine komplexe Größe in einem mehrdimensionalen Raum) hat die Bedeutung eines die Gegensätze der anschaulichen Vorstellungen vereinigenden Symbols. Die statistische Verknüpfung dieser Wellenfunktion mit Beobachtungsreihen an gleichartigen und in gleicher Weise vorbehandelten Einzelsystemen ist analog zur obenerwähnten Verknüpfung der Trefferwahrscheinlichkeit eines Photons mit dem klassischen Wellenfeld. Dieser neue Typus eines Naturgesetzes vermittelt zwischen den Ideen des Diskontinuums (Teilchen) und des Kontinuums (Welle) und kann daher im Sinne von BOHR als «Korrespondenz» aufgefaßt werden, die den klassisch deterministischen Typus des Naturgesetzes rationell verallgemeinert.

[2] N. BOHR, *Atomtheorie und Naturbeschreibung*, Kap. III, p. 62 (Berlin 1931).

eschaffenheit unabhängig sein soll von der Art, in elcher es beobachtet wird. Wir haben gesehen, daß die oderne Physik, durch Tatsachen gezwungen, diese bstraktion als zu eng aufgeben mußte. Die komplentäre Extrapolation ist die der Hindu-Metaphysik om reinen Subjekt des Erkennens, dem kein Objekt ehr gegenübersteht. Persönlich habe ich keinen Zweifel, ıß auch diese Idee als unhaltbare Extrapolation erınnt werden muß. Der abendländische Geist kann einen lchen Begriff eines überpersönlichen kosmischen Beußtseins, dem kein Objekt gegenübersteht, nicht ankennen und muß die durch die Idee der Komplemenrität vorgezeichnete Mitte einhalten. Von dieser aus etrachtet wird durch den Begriff des Bewußtseins beits eine Zweiheit von Subjekt und Objekt vorausset zt.

An Stelle des objektlosen Allbewußtseins des Orients ıt die abendländische Psychologie den Begriff des Unewußten aufgestellt, dessen Beziehung zum Bewußtin ähnlich paradoxe Züge aufweist, wie wir sie innerlb der Physik antreffen. Einerseits weist die moderne sychologie eine weitgehend objektive Realität der unewußten Psyche nach, andrerseits stellt jede Bewußtıchung, d.h. Beobachtung, einen prinzipiell unkonollierbaren Eingriff in die unbewußten Inhalte dar, odurch der objektive Charakter der Realität des Unewußten begrenzt und dieser zugleich eine Subjektivit verliehen wird.

Es würde mich zu weit führen, hier noch auf andere ıalogien zur physikalischen Komplementarität einzuhen, die in das Gebiet der Biologie fallen und auch ıs Problem des psychophysischen Parallelismus beeffen.

Ich hoffe, daß es mir gelungen ist, Ihnen einen Einuck von der synthetischen Kraft der Idee der Komementarität zu geben, welche durch prinzipielle Beenzungen des Anwendungsbereiches gegensätzlicher orstellungen die Widerspruchsfreiheit eines mit diesen erierenden Begriffssystems gewährleistet.

Summary

The situation called "complementarity" by N. ohr is explained with the aid of the example furnished the spheres of application of the contrasting concepts "wave" and "particle" in modern atomic physics. It nsists in the fact that the experimental arrangements which the one or the other of these intuitive pictures applied necessarily are mutually exclusive as a conquence of the fundamentally never completely deternable interaction between instruments of observation d observed system. The analogy is pointed out beeen this complementary situation and the paradoxes the relation "subject—object" in general, as well as e pair of opposites employed in more recent psychogy, "conscious—unconscious", in particular.

STUDIORUM PROGRESSUS

Die Grundlagen des Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskelfasern der Wirbeltiere

Von Paul Krüger[1], Heidelberg

Die sinnfälligste Äußerung tierischen Lebens ist die *Beweglichkeit*, was natürlich nicht heißen soll, daß bei Pflanzen keine Bewegungen vorkommen.

Man unterscheidet *Protoplasmabewegungen, Flimmer-* und *Geißelbewegungen* und *Bewegungen mittels kontraktiler Fibrillen.* Diese finden sich als *Myoneme* bei verschiedenen Protozoen, bei Metazoen aber in besonderen Zellen oder Derivaten von solchen, den *Muskelzellen* bzw. *-fasern.*

Mit Ausnahme der Spongien, bei denen man bisher keine Nervenzellen nachweisen konnte, treten die Muskelfibrillen im allgemeinen (Ausnahme Iris der Fische und Amphibien) nur auf Erregungen hin, die durch die *Nervensysteme* übermittelt werden, in Tätigkeit.

Die Bewegungen beruhen auf der Umwandlung chemischer Energie in kinetische und auf physikochemischen Vorgängen. Am besten sind wir darüber bei der Tätigkeit des *quergestreiften Skelettmuskels* der tetrapoden Wirbeltiere unterrichtet. Diese äußert sich hier in der Aufeinanderfolge von Verkürzung (*Kontraktion*) und Erschlaffung (*Expansion*) der Fibrillen. Struktur und Funktion scheinen also bei diesen besonders eng verknüpft zu sein. Es ist also verständlich, wenn ein solches Substrat und Geschehen schon seit langem wissenschaftliches Interesse gefunden haben. Erkenntnisse durch tieferes Eindringen in diese Vorgänge und Zusammenhänge müssen grundsätzliche Bedeutung besitzen. Es gibt deshalb wohl nicht viele Gebiete der Histologie und Physiologie, die so intensiv in Angriff genommen worden sind wie dieses. An diesen Untersuchungen sind aus den gleichen Gründen auch Pharmakologen, Pathologen und Kliniker — Neurologen und Chirurgen — beteiligt.

Neben dieser Fähigkeit der Muskeln, *Bewegungen auszuführen,* kommt ihnen noch eine andere Aufgabe zu, die der ersteren gerade entgegengesetzt ist: den Körper oder die Teile desselben in einer bestimmten, auf Grund von Bewegungsvorgängen eingenommenen Stellung zu *halten,* auch gegen einwirkende Kräfte.

Diesen Dauerzustand hat man als *Tonus* bezeichnet. Schon sehr frühzeitig wurde versucht, die mit diesen Feststellungen aufgetauchten Probleme, welche Vorgänge der Muskelkontraktion zugrunde liegen und worauf der Muskeltonus beruht, mit den verschiedensten Methoden der Lösung nahezubringen.

Die erstere Frage wurde fast ausschließlich unter Verwendung der Skelettmuskeln des «Frosches» und Kaninchens angegangen. Dabei wurde aber übersehen, daß zuvor die zweite Frage geklärt sein muß. Bei dieser handelt es sich ja um die Alternative, beruht der Tonus der Muskeln auf bestimmten Eigenschaften der Fasern, d. h. sind nur besonders strukturierte Fasern zu tonischen Leistungen fähig und anders beschaffene nur zu tetanischen Kontraktionen, oder liegt nur ein, in allen Muskelfasern enthaltenes Substrat vor, dessen verschiedene Reaktion – tetanische Kontraktion oder tonische

[1] Zoologisches Institut, Universität Heidelberg.

Dauerhaltung – von der Beeinflussung durch das Nervensystem abhängt.

Wurde der Entscheid im Sinne eines spezifischen Tonussubstrates getroffen, so bestand die Verpflichtung, die zur Lösung der ersten Frage zu verwendenden Muskeln *vorher* auf ihre strukturelle Zusammensetzung hin zu untersuchen. Das ist schon 1889 von ROLLETT[1] gefordert worden. Fünfzig Jahre später machten zwei andere Physiologen (FRITZ BUCHTHAL und J. LINDHARD[2] die Nichtbefolgung dieses Rates den Muskelphysiologen zum Vorwurf.

Zur Erklärung dieser Unterlassung sei zugegeben, daß die bisherigen Behauptungen, das morphologische Substrat für den Tonus gefunden oder wenigstens das Vorkommen von zwei histologisch und physiologisch verschiedenen Fasern («rot»-«weiß», trüb-hell, dünn-dick) in den Skelettmuskeln der Wirbeltiere nachgewiesen zu haben, wenig überzeugend wirken, da scharfe Unterschiede vermißt, vielmehr alle Grade des Übergangs von einem Extrem ins andere gefunden wurden. Auf der anderen Seite hat die Übertragung der Befunde an einigen wenigen glatten Muskeln – zumeist von Wirbellosen – auf die Verhältnisse der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere (PARNAS, BETHE, RIESSER[3]) nicht zur Klärung des Tonusproblems beigetragen, sie sind außerdem in letzter Zeit als nicht zutreffend bezeichnet worden[4].

Im Hinblick auf diese Unsicherheit bedeutete es deshalb einen außerordentlichen Fortschritt für unsere Erkenntnis über die Bedingungen der beiden Leistungen der Muskeln, als *Sommerkamp*[5] beim Frosch nachwies, daß es anscheinend drei verschiedene Arten von Muskeln gibt: 1. reine Tetanusmuskeln, welche die Einwirkung von Azetylcholin mit einer raschen Zuckung beantworten; 2. solche, bei denen ein Teil der Fasern («Tonusbündel») auf Azetylcholin mit einer Dauerverkürzung reagiert, und 3. Muskeln, bei denen anscheinend alle Fasern tonisch sind.

Der Versuch, dieses unterschiedliche pharmakologische Verhalten der Muskeln mit einem abweichenden Gehalt der Fasern an Sarkoplasma in Beziehung zu bringen, ergab keine Anhaltspunkte dafür (FREUND in SOMMERKAMP, S. 115).

An diese Arbeit knüpfte KRÜGER[6] an. Er konnte zeigen, daß beim Frosch «der sartorius in seiner Mitte tatsächlich nur aus einerlei Fasern (Tetanusfasern)» besteht; «wohingegen sich am proximalen Ende des gastrocnemius bis weit nach der Mitte des Muskels, auf der dem Nerv abgewendeten Seite randständig Faserbündel befinden, die ein homogenes (?) Aussehen besitzen (? Tonusbündel)».

In Zusammenarbeit mit DUSPIVA und FÜRLINGER wies KRÜGER[7] dann nach, daß den beiden Leistungen der Muskeln Bewegen und Halten (aufgezeigt für die TIEGELsche Kontraktur, die Azetylcholinreaktion und den Phosphatstoffwechsel; Frosch) in den Skelettmuskeln spezifische Strukturen zugeordnet sind. Untersuchungen über die Spannungsentwicklung in der Azetylcholinkontraktur bestätigten, daß Tetanus- un Tonusfasern zwei völlig verschiedene Substrate sin (HANISCH[1]). In einer Reihe histologischer Arbeite (DANZINGER, KÖHLER, THIEL, NEL[2]) wurde festgestell daß die beiden Faserarten bei sämtlichen tetrapode Wirbeltieren in den Skelettmuskeln vorhanden sinc und daß dies auch für die Selachier (KRÜGER[3]) zutrift Wieweit bei den Teleostiern abgewandelte Verhältniss vorliegen, bedarf weiterer Untersuchungen (vgl. BÜHN MASER[4]).

Es gibt also in den Skelettmuskeln der tetrapode Wirbeltiere und Selachier zwei Arten von Fasern: solche deren Querschnitt gleichmäßig über die Fläche verteilt Fibrillen – mehr oder weniger punktförmig (so schon vo KÖLLIKER[5] beschrieben) – zeigt, und andere, bei dene der Querschnitt mit unregelmäßig gestalteten, flächige Gebilden (Polygone oder ineinander gefaltete Bänder in denen Fibrillen nur bei günstigen Objekten (z. E Schlangenmuskeln) leicht beobachtbar sind, angefüll ist. Diese Struktur hat nichts mit der SCHAFFERsche «Säulchenfelderung»[6] oder gar der «COHNHEIMsche Felderung» (die «hellen Plasmastränge» sind Lücken!) zu tun. Beides sind Kunstprodukte. Ich bezeichne jetz das Querschnittsbild der ersteren Art von Fasern al *Fibrillenstruktur* (Fi.-Str.), das der anderen mi *Felderstruktur* (Fe.-Str.).

Diese Strukturen sind *stets* bei einwandfreier Fixie rung nachweisbar und erfahren keinerlei Abwand lungen (gegen WACHHOLDER[8] und KNOLL und BARKLEY[9]) Unter der Einwirkung der Fixierungsmittel entsteht be der gleichmäßigen Ausbildung der Fibrillen in einer dünnflüssigen, stromaarmen Sarkoplasma[10] eine Fase mit Fi.-Str., wobei um jedes Fibrillenbündel eine durch weg etwa gleich große, aber geringe Menge Sarkoplasma kolloide niedergeschlagen wird. Die dadurch bedingte Lücken sind auch etwa gleich groß, so daß eine regel mäßige Verteilung der «Fibrillen» über den Querschnit der Faser die Folge ist. In Fasern mit zähflüssigen stromareichen Sarkoplasma – nicht identisch mi «roten» Fasern – bleiben mehrere der offensichtlich i geringerer Anzahl vorhandenen Fibrillenbündel in einer größeren Koagulat vereinigt, die Zwischenräume (leer erscheinen als «Straßen», «Bahnen»: Fe.-Str. Erst orientierende Messungen der Doppelbrechung der Faser mit Fe.-Str. (M. latissimus dorsi anterior [*Corvus*]) er gaben, daß sie offenbar größer ist als in den Fasern mi Fi.-Str. (M. latissimus dorsi posterior) (vgl. Doppelbre chung des «Zytoplasmas» der Purkinjeschen Fäden in Herzen des Schafes, W. J. SCHMIDT[11]).

[1] A. ROLLETT, S. B. Ak. Wiss. Wien, math.-naturw. Cl. *98*, Abt. III, 169 (1889).

[2] F. BUCHTHAL und J. LINDHARD, Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Meddel. *14*/6, 1 (1939).

[3] J. PARNAS, Pflügers Arch. *134*, 441 (1910). – A. BETHE, ib. *142*, 291 (1911). – O. RIESSER, Handb. norm. path. Physiol. *8*/1, 192 (1925).

[4] E. M. KREPS, Fiziol. Z. *19*, 211 (1935). – E. K. SCHUKOW, ib. 933.

[5] H. SOMMERKAMP, Arch. exp. Pharm. Path. *128*, 99 (1928).

[6] P. KRÜGER, Biol. Zbl. *49*, 616 (1929).

[7] P. KRÜGER, F. DUSPIVA und F. FÜRLINGER, Pflügers Arch. *231*, 750 (1933).

[1] H. HANISCH, Inaug.-Diss. (Wien 1934). – P. KRÜGER und H HANISCH, Z. Biol., im Druck (1950).

[2] F. DANZINGER, Z. Zellforsch. *25*, 316 (1936). – H. KÖHLER, ib *28*, 597 (1938). – H. THIEL, ib. *30*, 67 (1939). – J. TH. NEL, Verh naturhist.-med. Ver. Heidelberg, N. F. *18*, 223 (1940).

[3] P. KRÜGER, Zool. Anz., im Druck (1950).

[4] W. BÜHN, Z. Zellforsch. *30*, 323 (1940). – J. MASER, Zool. Jb. Ana Ont. *70*, 60 (1949).

[5] A. KÖLLIKER, Z. wiss. Zool. *8*, 311 (1857).

[6] J. SCHAFFER, S. B. Ak. Wiss. Wien, math.-naturw. Cl. *10* Abt. III, 7 (1893).

[7] COHNHEIM, Virchow's Arch. *34*, 606 (1865).

[8] K. WACHHOLDER und F. NOTHMANN, Pflügers Arch. *229*, 12 (1932).

[9] W. KNOLL und E. BARKLEY, Z. mikr.-anat. Forsch. *49*, 10 (1940).

[10] H. H. WEBER und KL. MEYER, Biochem. Z. *266*, 137 (1933). H. ENSINGER, Z. Zellforsch. *28*, 614 (1928). – F. LORETI, Comm Pontif. Accad. Sci. *4*, 413 (1940). – R. BARER und A. R. H. COL Nature *163*, 198 (1949).

[11] W. J. SCHMIDT, Z. Zellforsch. *26*, 728 (1937).

Die Verteilung beider Faserarten auf verschiedene ıskeln steht stets im Zusammenhang mit der Aufgabe r Muskeln im Körper und den Ergebnissen reizphysio- gischer und chemischer Untersuchungen. Muskeln, ıheitlich aus Fasern mit Fi.-Str. zusammengesetzt, ıd u. a. die Mm. sartorius, semimembranosus, adductor ıgus der Anuren, Schwanzmuskeln von *Triton*, viele ıskeln von *Lacerta*, fast alle Flugmuskeln der Vögel, adductor magnus des Kaninchens, M. gastrocnemius r Katze, Brust- und Oberarmmuskeln der Fleder- äuse (gegen ROLLETT[1]). – Fasern mit Fe.-Str. finden h neben solchen mit Fi.-Str. (in sehr geringer Zahl er überwiegend) u. a. im M. ileofibularis (im «Tonus- ndel», SOMMERKAMP[2]), im Semitendinosus (in iden Köpfen, GAUDERNAK[3]), Gastrocnemius der ıuren, Bauchmuskeln von *Salamandra*, Rücken- und hwanzmuskeln der Schlangen, Beinmuskeln der Vögel, ıterarmmuskeln der Fledermäuse. – Muskeln, ein- itlich aus Fasern mit Fe.-Str. bestehend, sind sehr ten, ihr Nachweis aber wegen ihrer Bedeutung für die sung des Tonusproblems dringend erwünscht. An- ıeinend kommen solche nur bei Vögeln und Säuge- ren vor. Unter 22 bisher untersuchten Muskeln von *ına* fand sich kein einziger. Zu ihnen gehören der tissimus dorsi anterior der Vögel (fehlt offenbar allen geln unter Amselgröße), der Deltoideus minor (*Cico- a*), Brachialis inferior (*Ciconia, Oriolus, Athene*) und ıtepicondylo radialis (*Ciconia*). Demgegenüber enthält r Latissimus dorsi posterior (bei Kleinvögeln anschei- nd stets nur dieser ausgebildet: Zusammenhang mit ugweise) (bei 17 Arten) ausschließlich Fasern mit .-Str. Bei Säugetieren wurde der erste derartige ıskel im Orbicularis dorsi des Igels von DANZINGER[4] fgefunden. Zu ihnen gehören noch der Soleus der ıtze, der Semitendinosus der Leporiden. Andere be- rfen noch der Nachprüfung.

GÜNTHER[3] fand nun, daß der Sartorius des Frosches r dicke, markhaltige motorische Nervenfasern und ıdigungen besitzt, daß dagegen in der proximalen älfte des Ileofibularis, d. h. in der Region des «Tonus- ndels», neben solchen noch andere auftreten, und zwar ndelt es sich um «eine große Anzahl feiner und feinster, Gruppen verlaufender Nervenfasern..., die sich oft er mehrere Muskelfasern hin verfolgen lassen». «Die nnen Endfasern werden schließlich häufig so außer- dentlich zart, daß man auch mit stärksten Immer- nssystemen nicht ihr wirkliches Ende bestimmen nn; teils haben sie feine eingelagerte Schleifchen, oder bilden an ihrem vermutlichen Ende feinste Ösen, die mittelbar in die Struktur des granulierten Proto- ısmas übergehen können und sich nur schwer gegen eses abgrenzen lassen.» Da es noch nicht möglich ist, ide Arten von Muskelfasern im Längsschnitt histolo- ch – vor allem in Versilberungen oder Methylenblau- bungen – einwandfrei zu charakterisieren und zu er- nnen, konnte eine Zuordnung dieser zweiten Art von rvenfasern und -endigungen zu den Fasern mit Fe.-Str. ht sichergestellt werden. (Prinzipiell gleiche Befunde ıchte KIRSCHE[5] an Teleostiermuskeln, wahrscheinlich ch KRUIMEL[6].)

[1] A. ROLLETT, S. B. Ak. Wiss. Wien, math.-natur. Cl. *98*, Abt. , 169 (1889).
[2] H. SOMMERKAMP, Arch. exp. Pharm. Path. *128*, 99 (1928).
[3] H. GAUDERNAK, Inaug.-Diss. (Wien 1936). – P. KRÜGER und GG. GÜNTHER, Anat. Anz. *97*, 169 (1950).
[4] F. DANZINGER, Z. Zellforsch. *25*, 316 (1936). – H. KÖHLER, ib. 597 (1938). – H. THIEL, ib. *30*, 67 (1939). – J. TH. NEL, Verh. urhist.-med. Ver. Heidelberg, N. F. *18*, 223 (1940).
[5] W. KIRSCHE, Anat. Anz. *96*, 419 (1948).
[6] A. KRUIMEL, Inaug.-Diss. (Amsterdam 1912).

Hier brachten nun die Untersuchungen von KRÜGER[1] am M. latissimus dorsi von *Ciconia, Buteo, Micropus, Columba* den klaren Entscheid.

Schnitte durch den nach BIELSCHOWSKY-AGDUHR versilberten M. posterior – wie auch von anderen Flugmuskeln mit Fasern mit Fi.-Str. von *Corvus* – zeigten ausschließlich dicke, markhaltige Nervenfasern mit typischen Endplatten (terminaisons en plaque). Ganz anders liegen die Dinge im M. anterior. Aus relativ wenigen Nerven mit dickeren, markhaltigen Fasern gehen zahlreiche feinmarkhaltige Fasern hervor. Auf den z. T. sehr langen Endstrecken wird die Markscheide so dünn, daß sie nur an Querschnitten (OsO_4) nachweisbar ist. Diese feinen, oft sich überkreuzenden oder auch anastomosierenden (?), geradezu Plexus bildende Fasern endigen entweder in Endtrauben (terminaisons en grappe) oder in feinen Endösen (*Ciconia*), ähnlich den von

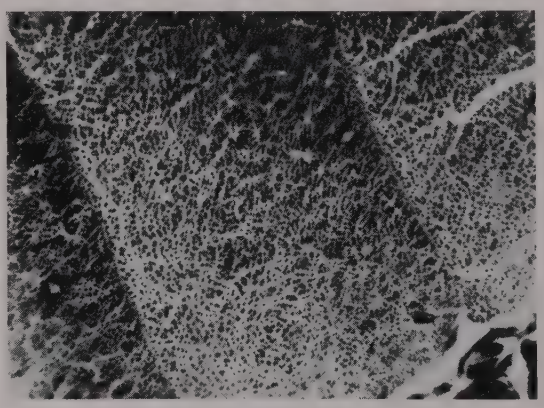


Abb. 1. *Rana esculenta*, Männchen. Sartorius. Tetanusfasern (Fasern mit Fi.-Str.). Zeiß 2 mm, Photookular 6, Kameraauszug 44 cm.

KURÉ[2] beschriebenen «Endplättchen». Im M. anterior wurde – unter sehr vielen Endigungen – nur dreimal beobachtet, daß 2, einmal vielleicht 3, Kollateralendigungen (auch diese sind für den M. anterior charakteristisch) auf einer Muskelfaser waren. Eine plurisegmentale Innervation ist – wie vielleicht auch sonst – nicht die Regel und spielt vor allem bei einer doppelten tetanischen und tonischen Innervation keine Rolle! Diese «glatten» Nervenfasern sind oft als «sympathische» angesehen worden. Das würde aber bedeuten, daß der M. anterior der Vögel nur sympathisch innerviert würde! Sympathische Fasern fanden sich nur an den Blutgefäßen.

Es gibt also in den Skelettmuskeln – wahrscheinlich aller Wirbeltiere – 2 charakteristisch verschiedene Muskelfasern, deren jeder eine spezifische Innervation zugeordnet ist. Es gibt sogar Muskeln, die nur aus einer Art von Fasern mit nur einerlei Art von Nerven und Nervenendigungen aufgebaut sind. Ihre spezifischen Leistungen sind hundertfältig als tetanisch oder tonisch erwiesen. Das Tonusproblem, um das seit JOH. MÜLLER (1840), M. SCHIFF «idiomuskuläre Reaktion»[3] und BRONDGEEST (1860), also seit 100 Jahren, gerungen wird, ist damit der Lösung nähergebracht worden, damit ist die Forderung von LINDHARD[4] erfüllt:

[1] P. KRÜGER, Zool. Anz., im Druck (1950).
[2] KEN KURÉ, Z. Zellforsch. *17*, 467 (1933).
[3] M. SCHIFF, *Moleschotts Untersuchungen* (1856).
[4] I. LINDHARD, Erg. Physiol. *33*, 337 (1931).

«Sollten die Untersuchungen später Bestätigung finden, welche zeigen wollen, daß es besondere 'Tonusfasern' in den Skelettmuskeln gebe, evtl. ganze 'Tonusmuskeln', muß man der Physiologie solcher Muskeln ein eingehendes und umfassendes Spezialstudium widmen, welches das Tonusproblem möglicherweise von einer ganz neuen Seite wird beleuchten können.»

Unsere Untersuchungen haben die Alternative Muskelsubstrat *oder* Innervation (letztere hatte HÄGGQUIST[1] noch vor kurzem gewählt) dahin entschieden: Muskelsubstrat *und* Innervation! *Das Primäre ist aber die Beschaffenheit der Muskelfaser*, wie die Beobachtungen nach Ausschaltung des Nerveneinflusses oder an Nervenendigungen freien Muskelabschnitten zeigen[2]. Diese Befunde geben auch eine Erklärung für die vielen Diskrepanzen in den Untersuchungen zur Muskelphysiologie. Allen diesen, z. T. bewunderungswürdigen Arbeiten fehlt die Grundlage für die aus den Ergebnissen gezogenen weittragenden Schlüsse: einwandfrei defi-

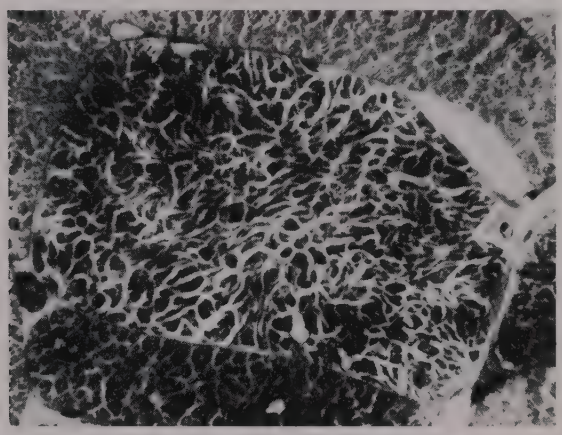


Abb. 2. *Rana esculenta*, Männchen. Semitendinosus. Tonusfaser (Faser mit Fe.-Str.). Zeiß 2 mm, Photookular 6, Kameraauszug 44 cm.

niertes Material. Die Verwendung eines Muskels, einheitlich aus Fasern mit Fi.-Str. als Ruhemuskel oder für bestimmte Vorgänge und die eines anderen – gemischten – als Arbeitsmuskel oder für andere Prozesse muß zu nicht übereinstimmenden Befunden und Folgerungen führen!

Eine Konsequenz kann ohne weiteres aus diesen Entdeckungen gezogen werden. Die Vorstellungen von SHERRINGTON[3] über «motor unit» und «the final common path» bestehen zu Recht (entgegen der Kritik von HÄGGQUIST[4]), einmal zwischen Neuronen, von denen dickmarkhaltige Fasern zu Muskelfasern mit Fi.-Str. ziehen, und andere Einheiten, bei denen zwischen Neuron und Muskelfaser mit Fe.-Str. der «final common path» von dünnen, feinmarkhaltigen Fasern gebildet wird[5]. Vielleicht handelt es sich bei diesen um extrapyramidale Bahnen, wie vor allem KURÉ behauptet hat, und wie es auch HÄGGQUIST als möglich ansieht. Kontraktil sind beide Wege!

[1] G. HÄGGQUIST, Acta med. Scand. *104*, 8 (1940); Annal. Med. exp. et biol. Fenn. *26*, 1 (1948).

[2] I. BERITOFF, Fiziol. Z. *27*, 667 (1939). – S. P. NARIKASHVILI, Bull. Biol. Méd. exp. *7*, 139 (1939).

[3] E. G. T. LINDELL und Sir CH. SHERRINGTON, Proc. Roy. Soc. London B, *97*, 488 (1925).

[4] G. HÄGGQUIST, Acta med. Scand. *104*, 8 (1940); Ann. Med. exp. et biol. Fenn. *26*, 1 (1948).

[5] Vgl. F. BREMER et J. MOLDAVER, C. r. Soc. Biol. *117*, 821 (1934). – R. GRANIT und V. SUURSOET, Nature *164*, 270 (1949).

Aus dem Studium der übergroßen Literatur (über 5 Arbeiten berücksichtigt) lassen sich nunmehr unter Z grundelegung der Struktur der Muskelfasern oder d Innervation des betreffenden Muskels eine Reihe we terer prinzipieller Feststellungen machen (der Problen gibt es noch genug!):

1. Die Muskeln aus Fasern mit Fi.-Str. sind nur zu *raschen Zu kungen* befähigt. Die *Zuckungskurve* steigt nach einer *sehr klein Latenzzeit* sehr rasch und steil an, um ebenso schnell wieder abz sinken, so daß die *Zuckungsdauer* kurz ist. An die Zuckung schließ sich häufig *elastische Nachschwingungen* an. Zur Aufrechterhaltu eines *Tetanus* – ein solcher kommt nur den Fasern mit Fi.-Str. zu ist eine große Zahl von Reizen in der Zeiteinheit notwendig. Es tr sehr bald *Ermüdung* ein. – Entsprechend dem Ablauf der Zucku ist der Verlauf des *Aktionsstroms* folgender: Das Spitzenpotential klein, das negative Nachpotential sehr kurz. Auch der *Ruhestrom* klein. – Die Faser gehorcht dem «Alles-oder-Nichts»-Gesetz.

Die *Fasern mit Fi.-Str.* wie die aus ihnen einheitlich aufgebaut Muskeln werden also mit Recht als *tetanische* bezeichnet.

Demgegenüber erfordern alle ebenerwähnten Vorgänge bei d Fasern mit Fe.-Str. *viel Zeit*. Die nach einer *größeren Latenzzeit* ei setzende Kontraktion ergibt eine *gedehnte Kurve*, insbesondere e reicht der absteigende Schenkel oft erst nach sehr langem Verlauf d Abszisse: es bleibt ein *Kontraktionsrückstand*. Infolgedessen hab bereits wenige Reize in der Zeiteinheit eine andauernde Kontraktio eine *tonische Kontraktur*, zur Folge. Starke elektrische Reize ergeb die *Tiegelsche Kontraktur*, starke lokale, mechanische, den *id muskulären Wulst*. Wieweit eine Ermüdung auftritt, muß nac geprüft werden. – Der Verlauf des Aktionsstroms ist länger als b den tetanischen Fasern. Das negative Nachpotential dauert so lan wie die Zuckung. *Der Nachkontraktur und der tonischen Dauerve kürzung kommt kein Aktionsstrom zu.* – Wieweit das «Alles-ode Nichts-»Gesetz gilt, bedarf auch der Nachprüfung.

Die *Fasern mit Felderstruktur* wie die aus ihnen einheitlich au gebauten Muskeln sind *das Substrat des Muskeltonus*!

Die tetanischen Fasern ergeben kleinere *Chronaxie*werte als d tonischen.

2. Auf den gleichen Eigenschaften der tetanischen und tonisch Fasern beruhen auch die Unterschiede in ihrem *Verhalten geg Kontraktursubstanzen. Azetylcholin* ruft an den Fasern mit Fe.-S schon in solchen Konzentrationen eine lang anhaltende – *tonische Kontraktur* hervor, die an den Fasern mit Fi.-Str. unwirksam sin Stärkere Konzentrationen haben bei diesen eine *Zuckung* zur Folg Nervenendigungenfreie Stellen beider Faserarten reagieren in en sprechender Weise: Kontraktur oder Zuckung. Wieweit die Ve kürzungen der tetanischen Fasern auf *Kaliumsalze, Nikotin, Guan din* und *Digitalisstoffe* – die tonischen kontrahieren sich sehr sta und anhaltend schon auf z. T. sehr geringe Konzentrationen – inne halb physiologischer Grenzen noch spezifische Muskelreaktion sind, bedarf der Nachprüfung.

3. *Chemisch* unterscheiden sich die Fasern mit Fi.-Str. von den mit Fe.-Str. durch höhere oder kleinere Werte für bestimmte Stof Das Warum läßt sich bis jetzt nur für einige von diesen vermuten.

Die *tetanischen Fasern* sind ausgezeichnet durch *höhere Werte* f *Mg, Glykogen, Milchsäure, Kreation, Carnosin, Anserin, Gesam* H_3PO_4, *säurelösliche* H_3PO_4, *Kreatinphosphat, Pyrophosph Hexosemonophosphorsäure, Vitamin* B_1 und *Lipoidphosphor*.

Die *tonischen Muskeln* unterscheiden sich von den tetanisch durch einen *größeren* (?) *Wassergehalt*, die *größere Summe d Kationen*, einen *höheren Gehalt* an *Na, K, Ca, Zn*, an *Cl* und *P* (*o*-H_3PO_4), einen *höheren* Gehalt für *Cholesterin* und *Zitronensäu* Auffallend ist ihr *stärkeres Reduktionsvermögen*, was auch in eine *höheren Gehalt* an *Glutathion* und *Ascorbinsäure* zum Ausdru kommt, und sich bei der *Versilberung* und *Methylenblaufärbung* b merkbar macht.

Die Werte für den *Gesamt-N* und die *Eiweißfraktionen* (H. WEBER[1], SZENT-GYÖRGYI[2]) müssen auf Grund obiger Befun nachgeprüft werden.

[1] H. H. WEBER und KL. MEYER, Biochem. Z. *266*, 137 (1933). H. ENSINGER, Z. Zellforsch. *28*, 614 (1928). – F. LORETI, Com Pontif. Accad. Sci. *4*, 413 (1940). – R. BARER und A. R. H. Co Nature *163*, 198 (1949).

[2] A. SZENT-GYÖRGYI, *Chemistry of muscular contraction* (N York, 1947).

Unterschiede im Stoffumsatz drücken sich schon darin aus, daß die otenstarre in den Muskeln aus Fasern mit Fi.-Str. viel früher einitt als in den tonischen, also Fasern mit Fe.-Str. enthaltenden uskeln. – Der *Kohlehydratstoffwechsel* scheint in beiden Faserarten weichend voneinander (vielleicht nur quantitativ) zu verlaufen d steht offensichtlich nur zu der Kontraktion der Fibrillen – die auch in den Fasern mit Fe.-Str., wenn auch zweifellos in geringerer enge, enthalten sind – in Beziehung, ebenso auch die *Umsetzungen s Kreatinphosphats* usw.

4. Möglicherweise bestehen die alten Vermutungen über die *indung des Tonus der Muskeln an das Sarkoplasma* zu Recht. *Die ibrillen der tonischen Fasern führen die langsame Kontraktion auf regungen hin herbei*, die vielleicht über das *extrapyramidale ystem* kommen. Das *Halten – die «tonische» Leistung – ist eine unktion des Sarkoplasmas.* Welche Stoffumsätze hierfür in Frage mmen, oder ob es sich um *physikochemische Vorgänge*, z. B. *Änderungen des Kolloidzustandes der Plasmaeiweißkörper*, handelt, bedarf dringend der Untersuchung, Die von RIESSER neuerdings[1] geäußerte Vermutung einer Bindung der Zuckungsreaktion an die isotrope Schicht der quergestreiften Fibrillen und der tonischen erkürzung an die isotrope Schicht entbehrt jeder Grundlage.

Als nicht zutreffend sind mit den obigen Feststellungen aber auch ejenigen Auffassungen erwiesen, die beinhalten, daß der «Tonus r quergestreiften Muskeln sich von dem Tetanus in den gleichen uskeln nur dadurch unterscheidet, daß der «Tonus» ein Tetanus nz weniger Einzelfasern ist», und daß, «sobald Ermüdung dieser nzelfasern eintritt, die Erregung automatisch auf andere Fasern ergeht, so daß scheinbar eine Ermüdung gar nicht auftritt oder enigstens erst nach längerer Zeit» (FULTON und LIDELL, aus: H. J. ORDAN[2]); «Tetanotonus», H. J. JORDAN, M. HARTMANN[3].

5. Auf die Bedeutung dieser Befunde für die Klinik (Neurologie, irurgie, Orthopädie) kann nur hingewiesen werden.

Die obigen Befunde und die daraus gezogenen Folgeungen lagen bereits im Frühjahr 1945 vor. Sie haben un in jüngster Zeit durch KUFFLER[4] eine geradezu änzende Bestätigung und Erweiterung gefunden.

Die feinmarkhaltigen Nervenfasern rufen auf wiederolte Reizung hin (an den ihnen zugeordneten Muskelsern, den Fasern mit Fe.-Str.: nachgewiesen besonders n Ileofibularis und Semitendinosus von *Rana*) lokale, ogestufte, tonische, mit beträchtlicher Spannung verundene Kontraktionen hervor[5]. Der Sartorius und dductor longus verhalten sich stets negativ, ergeben so nur tetanische, sich über die Faser ausbreitende uckungen. Die Schwelle für die feinen Nervenfasern t höher (3–6mal) als für die empfindlichsten dicken – uckungen verursachenden – Nervenfasern, die Leiungsgeschwindigkeit (bei 22°) aber geringer (8–4 m/sec zw. 40–10 m/sec).

Das Endplattenpotential (Endigungen der dicken arkhaltigen Nervenfasern) zeigt eine deutliche Schwel. Wird dieser Wert nicht erreicht, so erfolgt keine eaktion der Muskelfaser, wird er überschritten, zuckt e. Das Potential der Endigungen der feinen Nervensern («small junctional potential») kann nicht scharf auf die Muskelreaktion bezogen werden. Die mechanische Antwort nimmt mit Zahl und Frequenz der Nervenimpulse zu: die Kontraktion geht auf einen einzelnen Reiz hin von nahezu Null bis zu einem Maximum bei Serienreizen. Das Endplattenpotential ist ebenso groß wie das nachfolgende Muskelspitzenpotential. Unter Curarewirkung wird es mehrfach reduziert. Das «small junctional potential» ist größenordnungsgemäß wahrscheinlich kleiner als dieses unterschwellige Endplattenpotential, im Gegensatz zu diesem hat es aber eine Reaktion der Muskelfaser zur Folge. (Die Endigungen der feinen Nervenfasern sind gegen Curare empfindlicher als die Endplatten.) Die Potentialänderung der Endigungen der feinen Nervenfasern breitet sich mit Dekrement einige Millimeter auf der Muskelfaser aus.

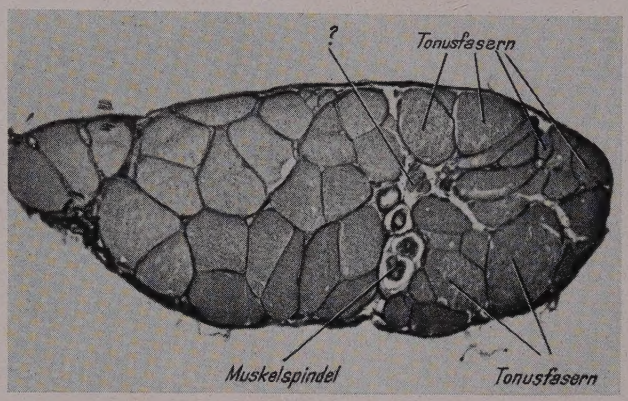


Abb. 3. *Rana esculenta*, Männchen. Ext. longus digiti IV. Lage der Tonusfasern. Zeißobjektiv 8 mm, Photookular 6, Kameraauszug 44 cm.

Reizungen der dorsalen Wurzeln oder des Grenzstranges oder seiner Verbindungsfasern ergaben keinerlei «small junctional potential» oder lokale Muskelkontraktionen.

Nachtrag bei der Korrektur:

Erst jetzt erhalte ich Kenntnis der Arbeit von SCHEINER[1]. Dieser ist auf Grund von Untersuchungen mit dem Rectus abdominis des Frosches (gemischter Muskel!) – offenbar ohne Kenntnis der Arbeit von KRÜGER, DUSPIVA und FÜRLINGER[2] – zu gleichen Ergebnissen gekommen: «... caractères particuliers différents de deux formes de contractions musculaires que l'on peut dissocier expérimentalement: une forme rapide qui fournit du travail, la contraction musculaire proprement dite, et une forme lente qui ne fournit pas de travail, la contracture.»

Curare oder Sauerstoffentzug in der Ringerlösung schalten die Azetylcholinwirkung aus, wobei aber die elektrische Erregbarkeit erhalten bleibt. Umgekehrt wird diese herabgesetzt oder sogar völlig unterdrückt, wenn der Muskel mit KCl, Phenolen, Alkoholen, Ketonen, Äther, Chloroform, Urethan usw. behandelt wird. DUSPIVA[2] hatte gefunden, daß eine Vorbehandlung des Sartorius – eines rein tetanischen Muskels – mit *l*-Cocain eine Minderung der Azetylcholinwirkung um 96% zur

[1] O. RIESSER, Arch. exp. Pharm. Path. *205*, 340 (1948).
[2] H. J. JORDAN, *Allg. vergl. Physiol. Tiere* (1929).
[3] M. HARTMANN, *Allg. Biol.*, 3. Aufl. (1947).
[4] S. W. KUFFLER und R. W. GERARD, J. Neurophysiol. *10*, 383 947). – S. W. KUFFLER, Y. LAPORTE und R. E. RANSMEIER, ib. 395.
[5] Im Hinblick auf die obenerwähnte Unterscheidung der Muskelsern in «dünne» und «dicke» sei besonders auf folgende Feststellung n KUFFLER (S. 385) hingewiesen: «This focal contraction is esent unequivocally in individual muscle fibers. It is particularly sily seen in small transparent muscles, such as the extensor longus g. IV». «Normally, many muscle fibers of various diameters spond to activity of a single small-nerve fiber.» Eine histologische ntersuchung des Extensor longus dig. IV von *Rana esculenta* ergab, ß sich tatsächlich in diesem Muskel die Fasern mit Felderstruktur nd 12% aller Fasern des Querschnittes) durch eine sehr unterhiedliche Dicke auszeichnen. Die Felder sind scharf ausgebildet d schon bei 250facher Vergrößerung deutlich zu erkennen.

[1] H. SCHEINER, C. r. Acad. Sci. *226*, 430 (1948).
[2] P. KRÜGER, F. DUSPIVA und F. FÜRLINGER, Pflügers Arch. *231*, 750 (1933).

Folge hatte, beim Palmaris – einem gemischten Muskel – aber nur um 19%. HANISCH (1936)[1] wiederholte diese Versuche mit *d*-Cocain und stellte fest, daß «das *d*-Cocain das tetanische und tonische Substrat sehr verschieden beeinflußt, und daß seine Wirkung auf das Tetanussubstrat um ein Bedeutendes größer ist als auf das Tonussubstrat».

Summary

In skeletal muscles of vertebrates (for teleost fishes it is not yet exactly proved) there occur 2 different sorts of muscle fibres, one of which shows, in transverse sections, the myofibrils uniformely distributed (Fibrillenstruktur), in the other there are irregularly-shaped areas of sarcoplasm with smaller (?) amounts of fibrils (Felderstruktur, not "areas of Cohnheim" which are artificial structures!). There are muscles which consist only of fibres with Fi.-Str., and others which contain also fibres with Fe.-Str. in small or large, but constant proportions scattered over the transverse section or concentrated in the periphery or in more or less distinct areas of the latter: "Tonusbündel". Muscles composed only of fibres with Fe.-Str. are rare.

The muscle fibres with Fi.-Str. are innervated by coarsely medullated nerve fibres which terminate in end-plates (terminaisons en plaque), the fibres with Fe.-Str. receive only finely medullated nerves with "en grappe" terminations.

The muscle fibres with Fi.-Str. are the substratum for the quick twitches (tetanic contractions), the others with Fe.-Str. are the long-sought substratum of tonus.

This is proved by many results of physiological experiments. The reactions to electrical and mechanical stimuli, under the influence of acetylcholine, are quite different. The same holds also in nerveless parts of the muscles. The electrical phenomena (resting and action-potentials, spike, after-discharge, chronaxie) are characteristic for each of the two types of muscle fibres. Chemically, the two fibres differ in many respects.

The fibrils of the tonic muscle fibres (with Fe.-Str.) contract, if excited, in some way. The holding (the "tonic contraction") is probably sustained by the sarcoplasm, which probably undergoes changes of its physico-chemical properties after contraction of the fibre. This is quite different from the conception of BOTTAZZI, who attributed the tonic contractility to the sarcoplasm.

In the living organism the two kinds of muscle fibres react in their characteristic manners upon excitation from the corresponding nerves, the tetanic fibres being stimulated by the coarsely medullated nerves with end-plates (end-plate potential), the tonic fibres by the finely medullated ones with "en grappe" terminals ("small junctional potential" according to KUFFLER). The sympathetic innervation has nothing to do with tonus.

[1] H. HANISCH, Inaug.-Diss. (Wien 1934). – P. KRÜGER und H. HANISCH, Z. Biol., im Druck (1950).

Congresses

DENMARK

XVIII International Physiological Congress

The XVIII International Physiological Congress will be held at Copenhagen the 15th to 18th of August, 1950.

Preliminary program and registration forms will be sent out and will from the 1st of January, 1950, be obtainable from local societies of Physiology, Biochemistry, and Pharmacology, or from the bureau of the congress:

Zoofysiologisk Laboratorium,
32 Juliane Mariesvej,
Copenhagen Ø.

(By mistake the same congress has already been announced under the heading "SWEDEN". Exper. *6*, fasc. 1, p. 40, 1950.)

VARIA

Collection of Papers for the Standard Text-Book of «Vergleichende Physiologie»

The production of a collective work on comparative physiology, a subject continually increasing in extent, which will give the reader an approximately accurate picture of the state of this science is a pressing need. *Comparative Physiology*, a work in four volumes by Prof. W. VON BUDDENBROCK, which begins its appearance in March, 1950, through the Birkhäuser Press, Basle, is intended to fill this gap. It is particularly difficult for the author to obtain the original literature, which, precisely in the field of comparative physiology, is scattered to an extraordinary degree. The publishers therefore beg that this project be supported effectively by sending in current reprints of latest date. The second volume, "Comparative Physiology of the Sense Organs and the Nervous System", is in preparation. It is requested that reprints be sent directly to Prof. W. VON BUDDENBROCK, Mainz, Zoological Institute of the Johannes Gutenberg University, Germany (French Zone), or to the Editor of "Experientia", Basel 10, Elisabethenstraße 15.

Corrigendum

B. BERDE, Besprechung des Buchs von E. F. DUBOIS, *Fever and the Regulation of Body Temperature* (Exper. *6*, fasc. 1, p. 30 [1950]).

In der rechten Kolonne, zweiter Absatz von unten, letzte Zeile, muß es richtig heißen:

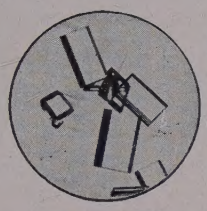
.... ohne Berücksichtigung dieser Ergebnisse kaum möglich ist.

SECALE-ALKALOIDE SANDOZ

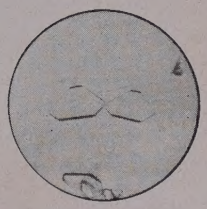
Die Chemiker und Pharmakologen der Sandoz AG. sind an der Aufklärung der Mutterkorn-Chemie und -Pharmakologie führend beteiligt.

Polypeptidalkaloide

1. Brenztraubensäuregruppe

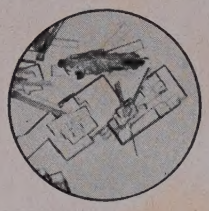


Ergotamin

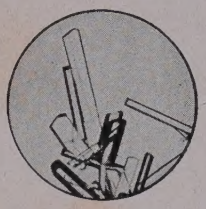


Ergotaminin

Stoll 1918



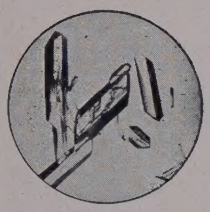
Ergosin



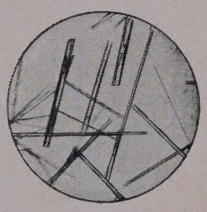
Ergosinin

Smith und Timmis 1937

2. Dimethylbrenztraubensäuregruppe

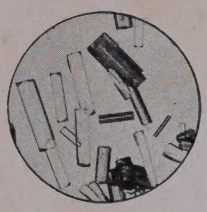


Ergocristin

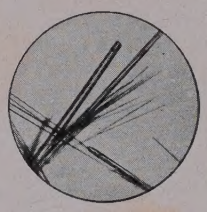


Ergocristinin

Stoll und Burckhardt 1937

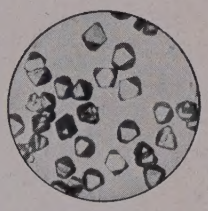


Ergokryptin



Ergokryptinin

Stoll und Hofmann 1943



Ergocornin

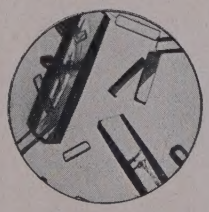
Ergocorninin

Stoll und Hofmann 1943

Alkanolamidalkaloide

Ergobasin

Stoll und Burckhardt 1935



Ergobasinin

Smith und Timmis 1936

(Partialsynthese: *Stoll und Hofmann 1936*)

Wichtige Neuerscheinung

PROF. DR. TH. WAGNER-JAUREGG

Therapeutische Chemie

Arzneimittel zur Behandlung von Infektionskrankheiten

Eine neue Zusammenstellung derjenigen chemischen Verbindungen, die in Praxis und Forschung Bedeutung für die Verhütung und Heilung von Infektionskrankheiten haben. Der erste Atlas der Antiseptica, Chemotherapeutica und Antibiotica. Unentbehrlich für Ärzte, therapeutische Chemiker, Chemotherapeuten, Pharmazeuten, Toxikologen und Bakteriologen

272 Seiten Großoktav Broschiert Fr. 35.50 in Ganzleinen Fr. 37.50

In jeder Buchhandlung erhältlich

Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung

International Review of Vitamin-Research

Revue internationale de Vitaminologie

Redactores: CONTINENT: E.GLANZMANN, T. GORDONOFF, GREAT BRITAIN: FR. BICKNELL, U.S.A.: TOM D. SPIES.

Das Herausgeberkollegium, das aus den bedeutendsten Gelehrten und sämtlichen Nobelpreisträgern aus dem Gebiete der Vitaminforschung besteht, bürgt für das anerkannt hohe Niveau und die absolute Zuverlässigkeit der Publikationen. Die «Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung» ist die einzige periodische Publikation dieses interessanten und wichtigen Gebietes.

The Board of Editors, composed of distinguished scholars and all bearers of the Nobel prize in the domain of vitamin research, vouch for the recognized high standard and absolute reliability of the publication. The "International Review of Vitamin-Research" is the sole periodical publication in this absorbing and important domain.

Un comité d'éditeurs, formé par les éminents chercheurs et tous les gagnants du prix Nobel dans le domaine des vitamines, garantit le niveau élevé des publications. La «Revue internationale de Vitaminologie» est l'unique publication de cet important et intéressant domaine.

Jährlich mindestens vier Hefte in zwangloser Folge, die zu einem Band von 32 Bogen vereinigt werden.
Jeder Band sFr. 48.—

Every year at least four numbers forming one volume of 512 pages. The volume sFr. 48.—

Chaque année au moins 4 fascicules qui forment un volume de 512 pages. Prix par volume fr. 48.—

Medizinischer Verlag: Medical Publisher : Editions médicales

HANS HUBER BERN SCHWEIZ